Vol. III Luglio-Agosto 1931 - A. IX Fasc. VII-VIII

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

BOLLETTINO

DELLA

SEZIONE ITALIANA

SOMMAIRE

BELFANTI S. et DESSY G. — Nouvelle méthode de vaccination antituberculeuse avec des bacilles vivants et virulents (Note préliminaire) 325

PERGOLA M. — Préparation des solutions de tellurite de potasse pour le « S. U. T. » 337

PERGOLA M. — Contribution à la culture apparemment aérobienne des anaérobies 342

PROVERA P. — Nouvelles recherches sur l'immunité antilipoïdée 345

CERRUTI C. G. et SOLLAI G. — Á propos de la diffusion de l'infection due à Br. Paramelitensis chez les ovines dans la Sardaigne 348

CALISTI E. — De la présence du bactériophage dans les eaux potables (Note préventive) 352

GIORELLI G. — Contribution à l'étude des bactériémies postopératoires consécutives aux extirpations des dents infectées des chiens 355

CASTELLI T. — Développement symbiotique d'Azoto bactéries et de Clostrides azoto fixateurs sur les plaques de terre modelée 359

MONTEMARTINI L. — La pathogénèse des maladies des plantes 360

CARBONE D. — La vaccination des plantes 396

CARMELITA CASAGRANDI — Sur la présence de Bacidioboles dans l'homme 399

SETTE N. — Recherches ultérieures à propos du poison de la « Meloe Proscarabaeus » 400

BIETTI G. B. — Nouvelles recherches sur le bactérium granulosis (Nogouchi) 405

MAGGIORA-VERGANO R. — Résultats de l'immunisation active dans la prophilaxie de la diphtérie. 409

CERRUTI CARLO F. — Recherches sur l'immunisation du cobaye par l'anatoxine diphtérique 419

CERRUTI CARLO F. — Sur la durée de l'immunité acquise par l'anatoxine diphtérique 423

BROTZU G. et ARTUSI C. — Recherches sur l'immunisation active contre la poliomyélite antérieure aigue 426

BROTZU G. — Valeur des réactions floculantes dans la diagnose de la malaria 429

CANTANI ARNALDO — Effets thérapéutiques des lactovaccins anti-typhiques et anti-mélitensis 434

PUGNANI E. — Les équilibres des défenses immunitaires. (Recherches moyennant le « Bacterium Prodigiosum ») 439

CANTANI F. — Sur la préparation d'antigènes pour la déviation du complément dans le typhus, moyennant des extrait alcooliques de foies septicémiques. 441

CANELLI A. — Expériences d'immunisation avec la réaction de Schick et avec l'emploi de l'anatoxine diphtérique de Ramon sur des cobayes tuberculeux et sur des cobayes sains. Déductions de clinique pratique 444

SALVIOLI G. — Action de l'éther sur la toxine tétanique libre ou liée à un tissu nerveux 448

TRIVELLINI A. — Recherches et rapports entre les anticorps de la lymphe en comparaison avec ceux du sérum du sang des artères et des veines . . . 449

CUCCO G. P. — Les glandes endocrines et les défenses immunitaires dans l'infection expérimentale par staphylocoques 456

BAJ L. — Recherches cliniques et immunologiques sur la gonoréaction 458

VIRANO G. — L'équilibre de la défense immunitaire dans l'infection expérimentale chez des animaux soumis à des stimulations uniques et à des stimulations répétées 459

TROSSARELLI L. — Equilibre de la défense immunitaire au cours de l'infection expérimentale des animaux normalement alimentés et des animaux en état d'avitaminose 461

DENES G. — Recherches sur l'infection rhumatismale 462

DAVANZO I. — Recherches sur le pouvoir bactéricide du sang 463

FLORIO C. — Action du sérum du sang des syphilitiques sur l'hémolyse de saponine 466

NEGRO G. — A propos du microbisme latent . . . 467

MELA B. — Recherches sur l'état de défense des tissus anesthésiés dans les rapports avec l'infection . . . 467

NICOLETTI V. — Sur l'action de renforcement du phénol dans la sérodiagnose de la syphilis 468

MUZZARELLI G. — La méthode de Muzzarelli pour la coloration des spores des microorganismes . . . 469

MAZZETTI G. — Tentetives de restitution de la virulence « in vivo » et « in vitro », en présence et en l'absence de vitamines, d'une souche charbonneuse hématique asporigène 471

BELFANTI S. et DESSY G. – **Nouvelle méthode de vaccination antituberculeuse avec des bacilles vivants et virulents.** (Note préliminaire).

Dans la vaccination antituberculeuse luttent pour la primauté deux méthodes principales, dont les autres ne sont que de simples corollaires, à savoir: la méthode qui emploie des vaccins contenant des bacilles tués de différentes manières et celle qui emploie des vaccins contenant des bacilles vivants mais fortement atténués.

La première méthode étudiée et préconisée par Maragliano, serait la meilleure dans la pratique, parce qu'elle est sans péril dans son application, si elle ne présentait pas l'inconvénient de conférer une immunité très réduite soit quant à la puissance, soit quant à la durée.

La seconde méthode, qui a trouvé en Calmette le dernier et plus heureux défenseur, aurait, par rapport au premier, l'avantage de conférer une plus forte immunité (immunité niée par personne), mais offrant le danger d'une possible virulentation des germes constituant le vaccin.

Étant convaincus que l'on ne saurait obtenir une forte immunité et de longue durée que lorsque l'organisme a subi une infection, soit même limitée, nous avons dirigé nos efforts vers la recherche d'une substance qui, ajoutée aux bacilles de la tuberculose, n'en altérât pas la vitalité et la virulence, mais en empêchat la rapide invasion de l'organisme, provoquant un chancre d'inoculation où les germes seraient lentement réabsorbés, et en laissant ainsi s'établir une immunité très active.

Notre attention a été de suite attirée, sur un groupe de substances hémolytiques organiques, substances qui s'affirmaient déjà comme très utiles dans la préparation du vaccin charbonneux « Carbozoo » proposé par Mazzucchi.

Ces substances étaient la lysocithine, la cyclamine et la saponine (*saponinum purissimum album*).

Ces substances nous étaient particulièrement connues par nos nombreuses études à ce sujet, et notre choix est tombée sur elles parce qu'elles sont aptes à provoquer, chez l'animal, par la voie hypodermique, un oedème gélatineux, rapidement limité par une barrière connectivale, qui se transformait par l'affluence de cellules mobiles en une masse consistante, qui, lentement, se réabsorbait.

Nous ne citerons pas ici les diverses propriétés et activités que ces substances possèdent et mettent en oeuvre et nous renvoyons, à ce propos, à la claire synthèse écrite par Mazzucchi dans le numéro de juillet de ce même Bulletin, rappelant seulement certaines données qui se rapportent plus particulièrement au sujet que nous allons traiter.

Tandis que les substances citées plus haut et particulièrement la saponine n'agissent en aucune manière sur les bacilles du charbon, par rapport à sa morphologie, sa virulence et sa vitalité, elles se comportent différemment par rapport au bacille de Koch.

Dostal (Frankfürter Zeitschr. f. Pathologie, 1916, p. 198), en effet, en cultivant les différents types de bacilles de la tuberculose sur agar glycériné additionné de 5-10% de saponine, observait des modifications d'aspect des patines culturales et de la morphologie du germe, spécialement au point de vue de son acidorésistance. La virulence aussi était notablement atténuée après de nombreux passages. Dostal prépara avec ses cultures un vaccin contre la tuberculose. Gildemeister obtint également des résultats identiques et, dans la suite, Wyss avec une quantité de saponine considérablement infésieure.

Récemment Arima, Aoyama et Ohnawa (Deutsche Med. Woch., 1924, p. 666) en ajoutant de la saponine à un milieu dépourvu d'albumose obtinrent de modifications notables dans la structure des colonies des bacilles tuberculeux et dans leur morphologie. Ayant observé que la saponine atténue la virulence des bacilles en question, ils préparèrent, successivement, deux types de vaccins qui, dans les expériences de laboratoire donnèrent d'excellents résultats.

Nous dirons, de suite, que ces vaccins se différençient fondamentalement de celui que nous étudions, parce que les premiers se servent de la saponine pour déterminer des modifications dans la virulence des germes, ainsi que fait la bile pour le B. C. G., tandis que nous employons des germes encore virulents pendant que la saponine a le but d'induire des modifications dans l'organisme vacciné.

Tandis que la méthode n'offre aucune difficulté d'application pratique dans le cas du charbon, parce que ce germe se conserve dans la saponine, vivant et virulent pendant plusieurs mois, dans notre cas le vaccin n'a pas une durée de plus d'une quinzaine de jours, puisque le bacille de la tuberculose s'atténue rapidement.

Cette difficulté n'a pu être encore vaincue, mais des études sont en cours pour conserver au vaccin une validité de beaucoup supérieure.

Après une série d'expériences ayant pour but de fixer les doses *optima* des substances à ajouter aux germes, nous avons institué un grand nombre de recherches dans le but d'établir les doses de germes à employer, l'innocuité du vaccin, et son pouvoir immunisant.

Nous nous sommes servis du cobaye comme animal d'expérience, puisqu'il est très sensible à l'infection tuberculeuse, et comme tel apte à soumettre le vaccin à un essai de la plus grande rigueur.

I.ère Expérience. — Préparation du vaccin: le voile cultural d'une souche de tuberculose Rome, de virulence moyenne de deux mois, est finement broyé dans un mortier d'agate et émulsionné en solution physiologique; la suspension de germes est mélangée avec une solution de lysocithine et de cyclamine en parties égales, de manière à ce que chaque cc. de vaccin contienne gr. 0,001 de bacilles, gr. 0,0025 de lysocithine et gr. 0,0025 de cyclamine. Le vaccin a été conservé dans un thermostate à 37° pendant 24 heures avant d'en faire usage.

Avec ce vaccin vingt-un cobayes ont été inoculés par voie rigoureusement hypodermique, à la dose de 1 cc. par animal. Quinze autres cobayes de contrôle ont été inoculés par la même voie avec gr. 0,001 de bacilles de la même culture employée pour le vaccin.

L'examen microscopique du vaccin laissait observer de nombreux bacilles a. r. suffisamment bien conservés, isolés pour la plupart; en petit nombre les formes granulaires et non acido-résistants. La culture du vaccin en milieu de Petroff et de Petragnani donnait lieu, après 30 jours environ, au développement de colonies isolées, d'aspect normal.

Le vaccin introduit par la voie hypodermique provoquait rapidement un oedème gélatineux, d'extension variable, qui durcissait lentement et s'acheminait à la guérison avec formation d'une petite nodosité connectivale: quelquefois il se formait une escarre et la guérison survenait par cicatrisation successive.

L'examen microscopique de la substance oedémateuse, examinée à divers intervalles de temps, laissait observer dans les premières 24 heures de nombreux bacilles a. r. libres, sans la présence d'autres éléments; après environ 72 heures on constatait une affluence de nombreuses cellules mobiles, qui ne pouvaient phagocyter les germes; même après 20 jours et plus, il était possible d'observer la présence de bacilles a. r.au chancre d'inoculation.

La lésion locale est toujours accompagnée de réactions modiques des glandes lymphatiques voisines, qui vont vers un processus hyperplasique, auquel fait suite une réparation connectivale.

Tandis que les cobayes de contrôle moururent tous en une période de temps oscillant entre 40 et 85 jours avec des lésions tuberculeuses diffuses, les animaux vaccinés ne présentèrent qu'une hyperplasie des glandes trachéobronchiales et lombaires; l'augmentation de poids était notable chez ces derniers. L'examen cultural des organes effectué 75 jours après la vaccination a donné un résultat négatif.

Dix cobayes vaccinés, tous en très bon état, ont été inoculés par voie intramusculaire, 75 jours après la vaccination, avec gr. 0,0005 de bacilles tuberculeux de la souche Rome; dix cobayes de contrôle subirent le même traitement.

Tandis que les cobayes de contrôle moururent de tuberculose viscérale après 35 à 85 jours, six des cobayes vaccinés survécurent et furent sacrifiés environ six mois après l'infection, présentant à l'autopsie une hyperplasie des glandes trachéobronchiales et lombaires et des traces de lésions préexistantes au foie. L'examen microscopique et cultural ne mit pas en évidence des bacilles tuberculaires dans les organes. Des 4 cobayes restants l'un mourut après 8 jours, de pasteurellose, présentant peu de bacilles a. r. au chancre d'inoculation et un léger grossissement des glandes de l'aine; deux autres moururent également de pasteurellose, après environ un mois, présentant des lésions tuberculeuses, de gravité moyenne, aux glandes lymphatiques de l'aine et trachéobronchiales et une légère hypertrophie splénique, avec présence de bacilles a. r. dans les glandes, mais non dans la rate; le dernier mourut après quatre mois et demi environ avec des lésions tuberculeuses d'une certaine importance aux diverses glandes lymphatiques et avec quelques tubercules au foie et à la rate.

II.ème Expérience. — 21 cobayes ont été vaccinés de la même manière et avec le même vaccin de l'expérience précédente; le vaccin, toutefois, avait été tenu dans le thermostat à 37° pendant 48 heures avant l'emploi. 15 cobayes de contrôle reçurent la même quantité de germes contenus dans le vaccin.

Les cobayes de contrôle moururent de tuberculose en 35-76 jours. Six des cobayes vaccinés sacrifiés à diverses périodes de temps ne présentaient que de légères lésions décrites dans l'expérience précédente.

Les 15 cobayes vaccinés survivants et 15 de contrôle ont été inoculés avec gr. 0,0005 de bacilles de Koch, souche Rome, par la voie intramusculaire.

Les cobayes de contrôle moururent de 42 à 90 jours après avec lésions tuberculaires diffuses. 10 des cobayes vaccinés, sacrifiés après 6 mois, ne présentèrent que les marques d'une infection préexistante, deux moururent après peu de jours, présentant seulement les lésions au chancre d'inoculation des germes, un mourut après 35 jours et à côté du tableau de la pasteurellose présentait des lésions tuberculeuses, de degré moyen, aux glandes lymphatiques, foie, rate et poumon; deux enfin moururent après trois mois environ de l'infection déclarée avec lésions tuberculeuses à la charge des glandes lymphatiques, de rares tubercules au foie, à la rate et au poumon et chez l'un d'eux un petit abcès au lobe inférieur du poumon droit, contenant des bacilles a. r.

III.ème Expérience. — 21 cobayes sont inoculés avec le vaccin en question conservé dans le thermostat pendant 96 heures. 15 cobayes de

contrôle reçoivent la même quantité de germes contenus dans le vaccin et meurent de tuberculose entre 40 et 92 jours.

Six cobayes vaccinés et sacrifiés à différentes périodes de temps ne présentent que de légères réactions glandulaires et aucune lésion aux autres organes.

Les 15 cobayes survivants sont infectés de la manière ordinaire 75 jours après la vaccination, en même temps avec 15 autres cobayes de contrôle; ces derniers meurent après 45 à 101 jours.

Des cobayes vaccinés six survécurent et, sacrifiés après 6 mois, ils présentèrent les signes d'une infection tuberculeuse préexistante aux glandes lymphatiques, à la rate, au foie et aux poumons. Dans ces lésions étaient présents les germes.

IV.ème Expérience. — 21 cobayes furent inoculés par la voie hypodermique avec le vaccin ordinaire conservé dans un thermostat pendante 18 jours. L'examen cultural du vaccin donna un résultat négatif; le vaccin présentait de nombreux précipités, dus, spécialement, à la lysocithine, qui, difficilement, se suspendaient de nouveau en agitant le vaccin. L'examen microscopique mettait en évidence des germes en grande partie faiblement a. r. et fragmentés.

15 cobayes de contrôle furent infectés avec le résultat ordinaire. Aucune réaction glandulaire ne se produisit par l'inoculation du vaccin, ni l'autopsie revèla de lésions tuberculeuses macroscopiquement visibles.

75 jours après la vaccination 15 cobayes vaccinés et 15 de contrôle furent infectés de la manière ordinaire. Les cobayes de contrôle moururent en deux mois environ. Des vaccinés, deux seulement résistèrent jusqu'à six mois de l'infection, présentant à l'autopsie des lésions assez légères aux glandes lymphatiques et aux divers organes, avec présence irrégulière de bacilles dans les divers foyers; les autres treize moururent de tuberculose de trois à six mois après l'infection.

Evidemment le vaccin de cette dernière expérience contenait, pour la plus grande partie, des germes morts ou très atténués et, par suite, l'immunité conférée a été très faible.

V.ème Expérience. — Après ces premières recherches d'orientation, qui par leurs résultats étaient assez encourageants, nous en instituâmes d'autres avec le but de perfectionner le vaccin.

C'est pourquoi nous apportâmes des modifications au mélange contenant les germes et nous augmentâmes la quantité et la virulence des germes.

Un vaccin fut donc préparé de manière à ce qu'il contint par cc. gr. 0,005 de lysocithine et gr. 0,0015 de bacilles tuberculeux, souche

Dessy III, doués de haute virulence. Le vaccin fut conservé pendant 24 heures dans le thermostate et puis inoculé par la voie hypodermique chez 6 cobayes. Six autres cobayes de contrôle recevaient par la même voie gr. 0,0015 de bacilles de la souche Dessy III; ces derniers moururent après 30 à 35 jours de tuberculose diffuse.

Après 75 jours de la vaccination fut sacrifié un cobaye vacciné qui présentait à l'autopsie des lésions tuberculeuses rares au dépens des glandes lymphatiques, et une légère hyperplasie splénique.

Tous les cobayes vaccinés avaient augmenté de poids, de 70 à 100 gr.; un seul, celui sacrifié, avait diminué de 30 grammes.

En même temps les 5 cobayes survivants et 5 de contrôle étaient infectés par voie intramusculaire avec gr. 0,001 de tuberculose, souche Dessy III. Les cobayes de contrôle moururent en 35-50 jours pour tuberculose diffuse.

Deux cobayes vaccinés moururent après 62 et 68 jours et présentèrent une tuberculose viscérale diffuse; les trois cobayes survivants furent sacrifiés après trois mois, ayant augmenté de poids. A l'autopsie, à un degré plus ou moins marqué, on observa des lésions caséeuses aux glandes lymphatiques, à la rate, au foie et au poumon.

VI.ème Expérience. — Vaccin préparé comme pour l'expérience précédente et inoculé à six cobayes après un séjour de 72 heures au thermostate. Six cobayes de contrôle subissent le traitement habituel et meurent de tuberculose en 30-50 jours.

75 jours après la vaccination un cobaye est sacrifié et il présente à l'autopsie des lésions tuberculeuses du type évolutif aux glandes de l'aine et trachéobronchiales, à la rate, au foie et aux poumons. Malgré le résultat décourageant de l'autopsie, les cobayes ayant notablement augmenté de poids, sont infectés de la manière courante avec 5 cobayes de contrôle.

Ces derniers meurent de tuberculose en 30-70 jours. Des vaccinés l'un meurt après 25 jours avec une tuberculose floride du poumon, du foie, de la rate et des glandes lymphatiques; un autre meurt après 45 jours et un autre enfin après 65 jours, également avec des lésions diffuses dans les divers organes. Les deux autres, notablement augmentés de poids, sont sacrifiés après trois mois; de ceux-ci l'un présente des lésions aux glandes de l'aine, trachéobronchiale et lombaires et à la rate, de peu d'importance, l'autre des lésions glandulaires, spléniques, hépatiques et pulmonaires, de gravité moyenne.

VII.ème Expérience. — Vaccin de composition identique à celui employé dans l'expérience précédente et conservé dans le thermostate pendant 5 jours avant l'emploi. On vaccine 6 cobayes et 6 autres servent

de contrôle, recevant une dose égale des germes qui sont contenus dans le vaccin. Ces derniers sont morts de tuberculose diffuse dans l'habituelle période de temps. Après 75 jours de la vaccination un cobaye est sacrifié et présente à l'autopsie des lesions viscerales florides. Les autres sont infectés de la manière courante avec 5 contrôlles. Les cobayes de contrôle meurent par tuberculose en 42-60 jours. Des vaccinés trois meurent après 25, 49, 58 jours et présentent lesions modiques de tuberculose et pasteurellose.

Les deux survivants sont sacrifiés après trois mois sans présenter des signes de tuberculose active anatomo-pathologiquement démontrables.

VIII.ème Expérience. — Vu les résultats satisfaisants des recherches précédentes, si l'on considère la rigueur des essais auxquels ont été soumis les animaux vaccinés et quelques désavantages que présente la lysocithine parmi lesquels il y a celui de ne pas être facilement stérilisable à la chaleur et de précipiter après un certain séjour dans le thermostate, nous avons pensé de substituer à la lysocithine la saponine (*saponinum purissimum album*), substance qui ne présente pas ces défauts, et nous préparâmes donc un vaccin ainsi composé: pro cc .gr. 0,005 de saponine et gr. 0,0015 de bacilles de Koch, souche Dessy III. Le vaccin, après 24 heures de séjour au thermostate à 37°, fut inoculé par voie hypodermique à 6 cobayes, tandis que 6 autres recevaient gr. 0,0015 de bacilles de la même souche. Ces derniers moururent de tuberculose en 30-45 jours.

Après 75 jours tous les cobayes avaient augmenté de poids et l'un d'eux ayant été sacrifié présenta une modique augmentation des glandes de l'aine, qui, à la section, présentaient de la consistance et étaient dépourvues de matières purulentes et caséeuses.

Ensuite, comme d'ordinaire, 5 cobayes vaccinés et 5 de contrôle furent infectés par la voie intramusculaire avec gr. 0,001 de bacilles de souche Dessy III. Les cobayes de contrôle moururent en 45-72 jours de tuberculose. Deux animaux vaccinés moururent après 20 jours avec des lésions dues à la pasteurellose et des lésions tuberculeuses aux glandes lymphatiques et à la rate. Les trois cobayes survivants furent sacrifiés après trois mois et présentèrent un tableau de tubercuIose floride diffuse.

IX.ème Expérience. — Six cobayes sont inoculés par voie hypodermique avec le vaccin dont à l'expérience précédente, conservé pendant 72 heures dans un thermostate à 37°; six cobayes servent de contrôle, comme à l'ordinaire et meurent de tuberculose en 30-45 jours.

Après 75 jours on sacrifie un cobaye vacciné, qui présente les glandes de l'aine grossies, dures à la section, ne contenant ni pus ni substance caséeuse. Les cobayes vaccinés survivants et 5 de contrôle sont infectés de la manière ordinaire. Les contrôles meurent en 35-47 jours de tuber-

culose. Des cobayes vaccinés, l'un meurt après 50 jours avec des lésions tuberculeuses aux glandes lymphatiques, au foie, à la rate, et au poumon et les autres quatre sont sacrifiés après trois mois et à l'autopsie deux animaux présentent des lésions tuberculeuses diffuses, et deux des lésions aux glandes lymphatiques et du foie.

X.ème Expérience. — Avec le vaccin habituel, qui a séjourné 5 jours en thermostate à 37°, sont vaccinés 6 cobayes, tandis que 6 autres servent pour le contrôle habituel. Ces derniers meurent de tuberculose en 30-46 jours.

Après 75 jours on sacrifie un cobaye vacciné qui présente des lésions glandulaires de peu d'importance. Ayant inoculé les survivants avec 5 cobayes de contrôle avec la dose ordinaire de germes, on a la mort de ces derniers en 40-62 jours, tandis que des vaccinés l'un meurt, après 6 jours, de pasteurellose, un après 68 jours, avec de légères lésions glandulaires et avec des signes de pasteurellose; trois sont sacrifiés après trois mois et de ceux-ci un seul présente quelques tubercules au foie.

XI.ème Expérience. — Enfin un troisième type de vaccin est préparé, ainsi composé: pro cc. gr. 0,0025 de saponine, gr. 0,0025 de lysocithine et gr. 0,001 de bacilles de Koch souche Dessy III. Le vaccin après 24 heures de séjour au thermostate à 37° est inoculé sous la peau de 6 cobayes, tandis que 6 autres reçoivent la dose ordinaire de germes. Les cobayes de contrôle meurent en 30-48 jours.

Un cobaye vacciné est sacrifié après 75 jours, présentant une légère hypertrophie des glandes lymphatiques de l'aine, trachéobronchiales et lombaires.

Les 5 cobayes survivants avec 5 autres de contrôle sont inoculés par la voie intramusculaire moyennant gr. 0,001 de bacilles de Koch, souche Dessy III. Les cobayes de contrôle meurent en 35-60 jours. Des vaccinés deux meurent après 8 jours de pasteurellose et avec hypertrophie des glandes trachéobronchiale, un autre meurt également de pasteurellose, après 83 jours, avec des lésions tuberculeuses preéxistantes aux glandes lymphatiques, au foie et à la rate; deux sont sacrifiés, après trois mois, présentant des lésions préexistantes aux glandes lymphatiques, au foie et à la rate. Tous les cobayes vaccinés avaient augmenté de poids.

XII.ème Expérience. — Le même vaccin dont à l'expérience précédente est inoculé à 6 cobayes par voie hypodermique après un séjour de 72 heures en thermostate. 6 autres cobayes servent pour le contrôle ordinaire; ils meurent en 32-46 jours de tuberculose diffuse.

Après 75 jours est sacrifié un cobaye vacciné et l'on constate une légère hypertrophie glandulaire, sans lésions aux autres organes.

Les 5 cobayes survivants et 5 autres de contrôle sont infectés de

la manière usuelle. Les cobayes de contrôle meurent en 40-65 jours. Des vaccinés l'un meurt après 60 jours avec quelques tubercules au foie et à la rate et une légère hypertrophie des diverses glandes lymphatiques et avec le tableau de la pasteurellose; quatre sont sacrifiés après trois mois et présentent les signes d'une préexistante infection tuberculeuse du foie et de la rate et des glandes lymphatiques: l'un d'eux présente seulement la calcification des glandes trachéobronchiales .Tous les cobayes vaccinés ont augmenté de poids.

XIII.ème Expérience. — Le même vaccin est employé après 5 jours de séjour en thermostat à 37°. On s'en sert pour vacciner 6 cobayes, tandis que 6 autres servent pour le contrôle habituel. Ceux-ci meurent en 31-48 jours de tuberculose diffuse.

Après 75 jours on sacrifie un cobaye vacciné, qui présenta une légère hypertrophie des glandes lymphatiques, spécialement trachéobronchiales.

Les 5 cobayes vaccinés et 5 cobayes de contrôle ont été infectés de la manière ordinaire; ces derniers moururent en deux mois environ. Des vaccinés l'un meurt après quatre jours de pasteurellose et les autres, sacrifiés après trois-mois, présentent: deux, les signes d'une préexistante infection tuberculeuse du foie, de la rate, du poumon et des glandes lymphatiques; un autre, à côté des lésions susdites, avait des tubercules à la rate; le dernier, une tuberculose floride diffuse. Tous les cobayes vaccinés ont notablement augmenté de poids.

De l'ensemble de toutes ces recherches il résulte que les différents types de vaccins essayés par nous, confèrent au cobaye une immunité d'autant plus remarquable, lorsqu'on considère l'énorme quantité de germes contre lesquels ils ont été essayés. Ces essais, que nous avons voulu particulièrement rigoureux, sont intégrés par un plus grand nombre d'épreuves dans lesquelles le vaccin était incorporé avec une moindre quantité de germes toujours virulents et la preuve de l'immunité acquise était vérifiée en infectant les animaux vaccinés avec des doses inférieures de germes, quoique toujours très remarquables. La substance composant le mélange a été choisie en la saponine, pour son action constante, pour la possibilité d'une stérilisation et pour sa stabilité.

XIV.ème Expérience. — Le vaccin pour ces essais a donc été ainsi préparé: pro cc. saponine gr. 0,0025; bacilles de Koch souche Dessy II, III, Nino I, gr. 0,0001. Séjour de 72 heures du vaccin dans le thermostat.

Avec ce vaccin ont été inoculés, par voie hypodermique, 200 cobayes. Trente cobayes de contrôle ont été infectés par la même voie et avec la même quantité de germes composant le vaccin. Les cobayes de contrôle, sauf quatre qui sont morts de pasteurellose, moururent en 45-80 jours (un mourut en 112) présentant un tableau de tuberculose floride.

Des 200 vaccinés, 11 moururent de pasteurellose dans diverses périodes ne présentant, au point de vue de la tuberculose, qu'une légère hypertrophie des glandes de l'aine, trachéobronchiales et lombaires; 9 furent sacrifiés après 75 jours et, sauf l'ordinaire, légère hypertrophie glandulaire, aucune autre lésion n'existait au dépens des divers organes. La recherche microscopique, culturale et biologique a donné chez ces animaux des résultats négatifs.

Les 180 cobayes survivants ont été séparés en deux lots: 90 ont été infectés par la voie intramusculaire avec gr. 0,0001 de bacilles de Koch souches Dessy II, III, Nino I; les autres 90 avec gr. 0,00002 de bacilles des mêmes souches.

Pour le contrôle nous nous sommes servis de deux lots de 50 cobayes chacun, infectés avec des doses égales de bacilles des cobayes vaccinés.

Les contrôles du 1.er lot moururent en 45-97 jours (sauf 8 morts de pasteurellose) présentant tous des signes de tuberculose floride.

Les contrôles du II.ème lot moururent en 55-122 jours tous également avec des lésions tuberculeuses diffuses.

Les cobayes vaccinés du premier lot donnèrent 14 morts de pasteurellose. Les autres furent sacrifiés, en partie, après trois mois de l'infection et présentaient des lésions préexistantes du système glandulaire lymphatique: quatre d'entr'eux avaient également des lésions d'une certaine gravité du foie, de la rate et du poumon. Les cobayes restants du 1er lot ont été sacrifiés 7 mois après l'infection et sauf un seul qui présentait de rares tubercules au foie, à la rate et au poumon et quelques autres qui présentaient les glandes de l'aine hypertrophiques et en partie calcifiée, tous étaient indemnes de lésions tuberculeuses et la recherche du bacille de la tuberculose faite dans leurs organes, soit microscopiquement que biologiquement et culturalement, a donné des résultats négatifs .L'augmentation de poids moyen pour chaque cobaye, de la vaccination à l'autopsie, a été de 200 gr. environ.

Les cobayes vaccinés du 2ème lot eurent 8 morts de pasteurellose; les animaux survivants ont été tous sacrifiés après 7 mois, se présentant pour le plus grand nombre indemnes de marques tuberculeuses, même minimes, tandis que d'autre part quelques-uns présentaient des formes légères de tuberculose en voie de guérison.

Les expériences faites dans ce vaste groupe d'animaux sont très satisfaisantes parce qu'elles démontrent clairement la possibilité de vacciner les animaux contre la tuberculose en employant des germes vivants et virulents. Ces résultats réconfortants nous ont induits à tenter une expérience de vaccination des chèvres, pour étendre ensuite éventuellement la vaccination aux veaux.

XV.ème Expérience. — Nous savons que la chèvre est un animal assez résistant à la tuberculose et que rarement à l'autopsie on a trouvé des animaux infectés naturellement; l'infection expérimentale, au contraire, n'est pas difficile à être provoqué lorsqu'on emploie une souche très virulente et une certaine quantité de germes.

Les chèvres vaccinées furent au nombre de quatre et chacune reçut sous la peau du dos 5 cc. d'un vaccin contenant pro cc. gr. 0,01 de saponine et gr. 0,002 de bacilles de Koch des souches Dessy II, III, IV. Le vaccin, avant son emploi, a subi un séjour de 72 heures dans le thermostate.

La vaccination a provoqué une augmentation thermique peu élevée et de la durée de 3-4 jours; au point d'injection s'est formé un infiltré oedémateux du volume d'une grosse noix, de consistance pâteuse, qui lentement s'endurcissait jusqu'à former un noeud d'aspect fibreux.

Les animaux présentèrent toujours un bien-être complet et augmentèrent de poids. Deux mois et demi après la vaccination deux des chèvres furent infectées par voie hypodermique avec gr. 0,15 de bacilles de Koch virulents; les deux autres reçurent par voie intrapéritonéale gr. 0,1 des mêmes bacilles. Deux chèvres de contrôle subirent le même traitement.

La réaction fébrile chez les chèvres vaccinées ne fut pas très intense et dura 3-4 jours: chez les chèvres de contrôle la température initiale fut modique et continua ensuite avec des aggravations irrégulières.

Après 4 mois la chèvre de contrôle, inoculée par la voie péritonéale, et après 4 mois et demi environ celle infectée sous la peau, sont mortes. L'autopsie de la première permit de reconnaître une tuberculose miliaire, avec des nodosités disséminées sur toute la surface des séroses, avec des lésions florides du foie, de la rate et des divers groupes de glandes lymphatiques. Des divers foyers il fut possible de mettre en évidence le bacille de la tuberculose microscopiquement, culturellement et biologiquement.

Le contrôle infecté par voie hypodermique et mort après quatre mois et demi, présenta des lésions moins diffuses des séroses, très notables au contraire celles du poumon, de la rate, du foie et des glandes lymphatiques des divers sièges. Même ici on a vérifié la nature tuberculeuse des lésions culturalement, microscopiquement et biologiquement.

Les souches isolées de nouveau de ces chèvres résultèrent de virulence augmentée pour le cobaye et seulement après des passages répétés dans cet animal elles reprirent la virulence normale.

Les quatre chèvres vaccinées augmentèrent de poids, ne présentèrent pas de troubles fébriles, montrèrent toujours un entier bien-être .Deux d'entre elles donnèrent le jour à un chevreau, sans ressentir aucun malaise.

Deux chèvres ont été sacrifiées par nous après un an environ de l'infection et à l'examen le plus minutieux on n'a pu observer de lésions

tuberculeuses d'aucune sorte. Les essais microscopiques, culturaux et biologiques effectués sur les divers organes donnèrent un résultat complètement négatif.

L'autopsie des deux autres chèvres a été effectuée à la distance d'un an et demi de l'infection par le prof. Stazzi, Directeur de l'Ecole Vétérinaire de Milan et par le prof. Gerosa, Directeur de l'Abattoir Public, et aucune lésion par tuberculose active ne fut trouvée par eux; les essais culturaux, microscopiques et biologiques furent également négatifs.

Nous dirons enfin que des expériences sur les bovins sont en cours, qui permettent, à l'état actuel, d'affirmer la complète innocuité du vaccin.

Considerations et Conclusions.

Les expériences que nous venons d'exposer, effectuées sur 695 cobayes et 6 chèvres ont montré, d'une manière certaine, qu'il est possible de conférer une immunité antituberculeuse par l'introduction dans l'organisme des germes vivants et virulents, pourvu qu'ils soient véhiculés par des substances qui, comme la lysocithine, la saponine, la cyclamine, soient capables d'exciter rapidement la formation d'une barrière locale, apte à empêcher la diffusion générale des germes en question dans l'organisme.

Parmi les substances aptes à incorporer les germes qui constituent le vaccin nous croyons qu'il soit utile d'employer la saponine (*saponinum purissimum album*) parce qu'elle est plus facilement conservable, plus constante dans son action, plus facilement stérilisable.

Le contact *optimum* entre germes et saponine, pour que le vaccin résulte plus actif est de 72 heures de thermostate à 37°; un séjour de 10 jours atténue notablement la virulence des bacilles de Koch.

La voie d'introduction du vaccin doit être absolument la voie hypodermique, parce que autrement le vaccin devient pathogène.

La méthode proposée par nous se différencie de toute autre parce qu'elle ne se sert pas de la saponine (ou d'autres substances ayant la même action) pour atténuer les germes, mais elle cherche, au contraire, d'en garder la virulence, pour obtenir une immunité plus prononcée; les substances ajoutées, dans notre cas, servent à provoquer une réaction organique telle à permettre l'institution de l'immunité avant que les germes composant le vaccin puissent se répandre dans l'organisme.

A côté des avantages notables exposés, le vaccin en question présente un désavantage: sa validité limitée. Pour éliminer cet inconvénient grave nous étudions la préparation du vaccin à l'état sec, d'après une technique spéciale.

Les notes que nous avons rédigées ne constituent qu'une première

partie de notre travail, dont nous avons voulu faire connaître les résultats; notre étude continue pour mettre en évidence le mécanisme d'action du vaccin, surtout au point de vue des réactions histologiques de l'organisme, pour établir la durée de l'immunité, pour étendre les applications du vaccin et, si possible, l'améliorer. Des expériences que nous avons commencées sur les bovins, nous feront connaître également les propriétés curatives du vaccin.

Les recherches que nous avons exposées ont eu commencement en janvier 1929.

Institut Sérothérapique de Milan.

PERGOLA M. – **Préparation des solutions de tellurite de potasse pour le " S. U. T. ".**

Comme on le sait, le « Serum-Oeuf-Tellurite » (S. U. T.), substratum proposé par moi pour la culture d'isolement et pour celle d'enrichissement du bacille diphtérique, est ainsi consitué: Jaunes d'oeuf, N. 1 — Sérum de sang, cmc. 50 — Solution de chlorure de sodium à 0,80%, cmc. 50 — Tellurite de potasse, gr. 0,02. Il ne convient pas toutefois d'ajouter aux autres ingrédients le tellurite en substance, parce que:

1) il faudrait en faire chaque fois la pésée exacte, et cela, évidemment, ne serait pas commode;

2) étant donné que le tellurite se transforme facilement en d'autres composés insolubles ou peu solubles dans l'eau, la quantité de sel pesée, ne correspondrait pas pour la plus grande partie à du tellurite, et ce dernier se trouverait donc en quantité moindre de la dose voulue, avec lé préjudice subséquent de l'électivité du substratum.

On peut éviter tout inconvénient en se servant de solutions convenablement concentrées (de préférence à 2%, mais on peut se servir également de celles à 1%) lesquelles, pouvant être conservées pendant un temps illimité, pourvu qu'elles soient gardées dans des récipients hermétiquement fermés, peuvent être préparées en quantité et, en les distribuant par doses de 2-5-10 cmc. dans des fioles ou tubes de verre sondés à la flamme on peut les avoir toujours à disposition sans être obligé de les préparer trop souvent.

Si le tellurite n'est pas altéré et reste complètement soluble dans l'eau, pour préparer des solutions à un titre déterminé, il suffit d'en peser une certaine quantité et de la dissoudre dans la quantité

d'eau distillée voulue. Soit, par exemple, gr. 3,24 de tellurite pesé; la quantité d'eau dans laquelle il faut le dissoudre, pour obtenir la solution à 2%, est donnée par la proportion:

$$2 : 100 : : 3{,}24 : x;$$

d'où:

$$x = \frac{3{,}24 \times 100}{2} = 162.$$

attendu que, comme on l'à dit, le tellurite se transforme facilement en des dérivés insolubles ou peu solubles dans l'eau, il n'est pas toujours possible de préparer, directement avec la simple pesée, des solutions à un titre déterminé établi d'avance et par suite il faut pouvoir faire autrement.

J'ai déjà indiqué ailleurs, la calcination et d'autres moyens, mais le moyen le plus simple et le plus pratique, pour atteindre le but, c'est de traiter quelques grammes de composé tellurique avec une solution aqueuse stérilisée d'hydrate de potasse au 10%. Pour éviter un excédent inutile de potasse, on l'ajoute d'abord à un demi cmc. ou à un cmc. à la fois et puis, lorsque la plus grande partie de la matière est dissoute, on l'ajoute goutte à goutte. Pour être plus sûr de ne pas excéder dans l'emploi de la potasse, on décante, la solution tellurique limpide, au fur et à mesure qu'on l'obtient, laissant au fond le résidu non dissout, auquel on ajoute peu à peu de l'autre potasse, pour le dissoudre complètement.

Si, en tenant compte de la quantité de produit tellurique prise, la solution ainsi obtenue est supposée concentrée au delà du 2% (titre préférable, ainsi qu'on l'a dit) on peut la diluer avec de l'eau distillée stérilisée; sinon on s'en passe, et si elle n'était pas limpide, on la laisserait déposer et on la décanterait, ou bien on la filtrerait avec un filtre de papier stérilisé. On en établit ensuite le titre avec la méthode suivante, semblable à celle qui sert à la détermination des substances organiques dans l'eau potable, et qui consiste à oxyder l'anhydride tellureuse (TeO^2) au moyen du permanganate de potasse. Pour la réaction il faut des solutions d'acide oxalique cristallisé, et de permanganate de potasse, dans de l'eau distillée, qui se correspondent de volume à volume, suivant l'équation:

$$\begin{array}{l} 5\,(C^2O^4H^2.2H^2O) + 2MnO^4K + 3SO^4H^2 = \\ \quad 630 \qquad\qquad 316 \qquad = SO^4K^2 + 2SO^4Mn + 10CO^2 + 18H^2O. \end{array}$$

Les solutions en question sont donc celles qui contiennent, en

des volumes égaux, de l'acide oxalique et du permanganate de potasse respectivement dans la proportion de 630 : 316. Pour cela on fait une solution d'acide oxalique avec gr. 6,30 par litre (en y ajoutant 50% d'acide sulfurique concentré pour la rendre plus stable) et une solution de permanganate avec gr. 3,16 par litre: ce sont ces solutions qui nous serviront pour titrer le tellurite. Avant cette opération, toutefois, on doit les contrôler au moyen de l'essai en blanc en présence de l'acide sulfurique: c'est-à-dire que l'on prend 10 cmc. de la solution de permanganate, on les dilue avec 40-50 cmc. d'eau distillée, on acidifie avec une quantité suffisante d'acide sulfurique, on fait bouillir pendant quelques minutes et l'on ajoute 10 cmc. de la solution d'acide oxalique. Si les solutions à l'examen sont, et se maintiennent exactes, elles se correspondent parfaitement volume à volume; si, au contraire, ce contrôle dénote une diminution de titre, ce qui, à la longue, ne se produit pas rarement dans la solution de permanganate, on remédie à cet inconvénient par le calcul. Si l'on trouve, par exemple, que 10 cmc. de la dissolution oxalique demandent, pour être oxydés, cmc. 11,4 de notre solution de permanganate, cela signifie que la dose de permanganate, qui devrait être contenue dans 10 cmc. de solution à 3,16%, si elle était exacte, est au contraire contenue dans cmc. 11,4 de la solution dont nous disposons. Nous verrons dans la suite quand et comment il faut tenir compte de cette donnée.

Pour le titrage des solutions de tellurite de potasse (TeO^3K^2) on se sert du permanganate, et la réaction, en présence d'acide sulfurique, a lieu suivant l'équation:

$$\underset{316}{2MnO^4K} + 4TeO^3K^2 + \underset{1014}{8SO^4H^2} = (SO^4)3Mn^2 + 4TeO^3 + 5SO^4K^2 + 8H^2O$$

de laquelle il résulte qu'à 316 de permanganate correspondent 1014 de tellurite de potasse, et par suite à 3,16 du premier, 10,14 du second. Une solution de permanganate à 3,16% correspond donc, volume à volume, à une autre de tellurite à 10,14%, et par suite 1 cmc. de l'une équivalant à gr. 0,00316 de permanganate, à 1 cmc. de l'autre, équivalent à gr. 0,01014 de tellurite. En multipliant par ce dernier coefficient le nombre de cmc. de permanganate employés dans le titrage, on obtient la quantité de tellurite de potasse contenu dans le volume de la relative solution utilisée pour l'essai, et de cette donnée on remonte, par un simple calcul, au pourcentage de tellurite de la solution.

Voici comment, dans l'exécution pratique, on fait ce titrage:

On introduit dans un petit ballon, ou dans une fiole, ½ cmc. de la solution de tellurite à titrer, et l'on dilue avec 40-50 cmc. d'eau distillée; on ajoute 10 cmc. de solution à 3,16% de permanganate de potasse, ou bien le nombre de cmc. qui y correspondent si de l'épreuve en blanc préliminaire il est résulté que la solution n'est pas exacte, 10 cmc. d'acide sulfurique dilué en parties égales avec de l'eau, et l'on fait bouillir pendant une dizaine de minutes. On enlève le récipient d'au-dessus de la flamme, on ajoute 10 cmc. de la solution à 6,30% d'acide oxalique, qui décolore complètement la masse liquide colorée par le permanganate, et l'on ajoute de nouveau, goutte à goutte, la solution de permanganate, jusqu'à à ce que l'on obtienne une légère coloration rosée du liquide bouillant, après l'avoir agité. On compte combien de cmc. de solution de permanganate ont été nécessaires pour cette dernière opération, on multiplie par le coefficient 0,01014; le produit ainsi obtenu est multiplié à son tour par 200 (ayant pris ½ cmc. de la solution primitive de tellurite) et l'on a le pourcentage de tellurite de potasse contenu dans la solution examinée.

Si, au lieu de faire le titrage sur ½ cmc on l'eut fait sur 1 ou 2 cmc. de la solution primitive de tellurite, la dernière multiplication, naturellement, se ferait respectivement pour 100 et pour 50.

Comme d'ordinaire, la solution tellurique obtenue sera d'un titre de beaucoup supérieur à 2%; il n'y a qu'à la réduire à ce degré de concentration par l'adjonction de la quantité voulue d'eau distillée stérilisée, quantité que l'on détermine par un simple calcul.

Pour rendre plus clairs les différents moments de la méthode de titrage exposée, nous présentons un exemple et, pour le rendre plus complet, nous supposons que dans l'essai en blanc il ait fallu, ainsi que nous l'avons dit plus haut, employer cmc. 11,4 de notre solution de permanganate pour décomposer 10 cmc. de la solution oxalique. Soit gr. 2 le poids du produit tellurique employé, et supposons qu'il ait nécessité, pour se dissoudre, environ 20 cmc. de solution d'hydrate de potasse à 10%. Puisqu'il est à présumer qu'avec 2 gr. de substance en 20 cmc. de liquide la concentration tellurique soit supérieure à 2%, on titre la solution en prenant cmc. 0,5. Et l'on dilue cette dose dans 40-50 cmc. d'eau distillée, on y ajoute cmc. 11,4 de la solution de permanganate, cmc. 10 d'acide sulfurique dilué, en parties égales, avec de l'eau, et l'on fait bouillir pendant 10 minutes. Après cela, on y verse 10 cmc. de la solution oxalique, qui décolorore complètement le liquide, et, additionnant la même solution de permanganate jusqu'à obtenir une

coloration persistante légèrement rosée, on détermine la quantité de permanganate qui a été employé pour décomposer le tellurite de potasse contenu dans cmc. 0,5 de solution du produit tellurique primitif. Soit cmc. 3,9 cette quantité de permanganate: comme on a vu que cmc. 11,4 de notre solution de permanganate correspondent à cmc. 10 de la solution exacte, on calcule à combien de celle-ci correspondent les-dits 3,9 cmc., résolvant la proportion suivante:

$$11{,}4 : 10 :: 3{,}9 : x; \qquad \text{d'où:} \quad x = \frac{3{,}9 \times 10}{11{,}4} = 3{,}42$$

Pour passer de cette donnée au pour centage de tellurite, on fait, comme on l'a dit, ces deux autres opérations:

$$3{,}23 \times 0{,}01014 = 0{,}0346788.$$
$$0{,}0346788 \times 200 = 6{,}93576.$$

La solution à l'examen contient donc 6,93 % de tellurite de potasse. Pour la réduire à 2 %, comme on l'a établi d'avance, elle doit être diluée avec de l'eau distillé, dont la quantité est établie de la manière suivante: On mesure la solution tellurique résultée à 6,93 %, et soit cmc. 18,8: le tellurite de potasse effectivement contenu dans ce volume de solution, on a la proportion:

$$100 : 6{,}93 :: 18{,}8 : x; \qquad \text{d'où:} \quad x = \frac{6{,}93 \times 18{,}8}{100} = 1{,}30284;$$

et de cette autre on déduit le volume global auquel doit être portée la solution, pour la réduire au titre de 2 %:

$$2 : 100 :: 1{,}30 : x; \qquad \text{d'où:} \quad x = \frac{1{,}30 \times 100}{2} = 65.$$

Aux 18,8 cmc. de la solution à 6,93 % doivent être ajoutés cmc. 46,2 d'eau distillée, pour la réduire à cmc. 65 et, par suite, à 2 % de tellurite de potasse.

La solution de tellurite, obtenue en employant comme dissolvant l'hydrate de potasse, est fortement alcaline.

Mais puisqu'elle entre dans le S. U. T. dans une proportion très faible, telle que l'est précisément celle de cmc. 1 ou 2 (suivant

qu'elle est à 2% ou à l'1%) sur cmc. 100 ou un peu plus de substratum, l'alcalinité apportée n'est jamais tellement élevée à pouvoir gêner le développement et, par conséquence la recherche et la démonstration du bacille diphtérique. On peut donc la laisser telle qu'elle est et l'employer ainsi. Certes, quel que soit le soin apporté pour la préparer, il y a toujours un excès inutile d'alcalis, excès, qui toutefois peut être éliminé (avant, bien entendu, d'essayer la solution de tellurite, pour ne pas en altérer le titre, une fois fixé) en le neutralisant avec de l'acide chlorhydrique à 10% dans de l'eau distillée. Cet acide doit être ajouté goutte à goutte, afin de pouvoir suspendre l'opération au moment voulu, c'est-à-dire lorsque le précipité, qui apparait immédiatement dans la masse liquide, cesse de se dissoudre nouvellement lorsqu'on l'agite, ou, mieux encore, avant que cela ne se produise. Quoiqu'il en soit, le précipité insoluble qui se formerait, s'élimine ou bien se redissout par quelques gouttes de potasse, ou, si l'on ne réussit pas par ce moyen, en le laissant se déposer et en décantant le liquide limpide, ou bien en filtrant le tout avec du papier.

Laboratoire de Micrographie et de Bactériologie de la Direction Générale de la Santé Publique. – Rome.

PERGOLA M. – **Contribution à la culture apparemment aérobienne des anaérobies.**

La contribution que plusieurs AA. ont apporté aux études originales de Tarozzi (1905) sur la culture aérobie, ou, pour mieux dire, apparemment aérobie des anaérobies, a conduit à la méthode Tarozzi-Pfuhl-Aperlo, suivant laquelle, on cultive les anaérobies dans du bouillon préparé avec du foie à la place de la viande. Ce bouillon de foie est employé pur ou bien en y ajoutant une certaine quantité de la bouillie de l'organe en question: en outre, si il a été préparé plus de 24 heures à l'avance, il est nécessaire, avant de le semer, de le chauffer pendant 20 minutes au bain-marie, à l'ébullition, ou bien dans un autoclave, et de le refroidir ensuite rapidement.

Bandini (1906) prépare, en se servant du foie, un extrait aqueux qui se conserve pendant longtemps lorsqu'il est séché au thermostate, pulvérisé et stérilisé: on s'en sert en l'ajoutant en petites quantités aux terrains de culture ordinaires.

Plusieurs recherches que j'ai eu l'occasion de faire ont démontré

que la préparation extemporanée du bouillon de foie peut être simplifiée et rendue plus commode et plus pratique, en pulvérisant le foie « in toto » au lieu d'en préparer l'extrait aqueux.

Ayant donc préparé l'hochis du fois, qu'on recueille dans un récipient exprès (capsule de porcelaine) à fond plutôt large et plat, on le sèche sur un bain-marie à l'ébullition. Cette opération peut être faite assez rapidement, mais demande, naturellement, un temps différent, selon la quantité du matériel: pour ½ — 1 Kg. de foie, il faut, tout au plus, quelques jours.

Le foie, en séchant, se réduit, à peu près, à ¼ de son poids primitif: on le pulvérise ensuite avec une molette ordinaire et on obtient ainsi une poudre dont une partie est très fine et l'autre granuleuse.

Il est inutile de séparer ces deux portions, car on se sert tout aussi bien de l'une que de l'autre. On conserve cette poudre dans des récipients de verre à bouchon dépoli, ou que l'on puisse de toute façon fermer hermétiquement: on peut la conserver ainsi pendant très longtemps, mais non indéfiniment. Si, en effet, elle a été soigneusement séchée et si l'humidité ne peut l'atteindre elle ne moisit même pas: cette altération, qui se manifeste très facilement, n'empêche pas de se servir du matériel, si toutes fois la moisissure n'est pas très répandue.

Lorsqu'on désire faire des cultures d'anaérobies on ajoute, en proportion du 3-10% (1) la poudre de foie au bouillon ordinaire, qui, après avoir été tenu dans un autoclave à la pression de ½—1 atmosphère et ensuite refroidi, est prêt à être employé. On peut, de cette façon, préparer chaque fois la quantité strictement nécessaire de terrain de culture; on peut, toutefois, aussi se servir de terrains préparés quelque temps à l'avance, pourvu qu'on ait soin de les chauffer nouvellement au bain-marie à l'ébullition ou dans un autoclave, comme on le fait pour le bouillon Tarozzi-Pfuhl-Aperlo.

La bouillie de foie qui se forme dans la préparation du bouillon correspond à peu près au foie « in toto »: on s'en sert après l'avoir séchée au bain-marie, et reduite en poudre. On utilise ainsi le foie de deux façons.

La poudre d'autres organes (rate, rein, cerveau) est employée de la même façon.

***

Le bouillon nutritif ordinaire avec ou sans glucose peut aussi servir, avec de la ouate hydrophile, à la culture des anaérobies; il suffit d'en introduire au fond du tube un tampon stérilisé, dont l'adhérence à la surface

(1) Il est bon de ne dépasser, ni en plus ni en moins, ces bornes. Mais étant donnée leur extension il n'est point nécessaire de peser exactement le foie sec et il est facile de habituer l'oeil à évaluer la quantité nécessaire.

de la paroi intérieure soit parfaite et assez solide: on laisse ensuite le bouillon au bain-marie à l'ébullition pendant 20-30 minutes et même plus, on le refroidit rapidement dans de l'eau et on le sème.

La ouate peut être placée dans les positions suivantes, en se servant du fil de platine.

1) au fond de la colonne liquide (position *a*);

2) dans un point intermédiaire entre les extrémités de la colonne liquide (position *b*);

3) en correspondance de la surface libre de la colonne liquide (position *c*).

Lorsque la ouate est dans les positions *a* ou *c* le développement des bactéries envahit toute la colonne qui en devient uniformement trouble: si, au contraire, le tampon est dans la position *c*, le développement a lieu, du moins pendant la première phase, dans la partie de la colonne qui se trouve sous la ouate et point dans celle qui est au dessus: la première est donc plus ou moins trouble, tandis que la seconde est claire.

S'il arrive que le développement des bactéries soit très abondant, surtout si l'on a une forte production de gas qui agitent la culture et déplacent le tampon la partie supérieure est aussi plus ou moins troubles. Mais en surveillant la culture il est toujours possible d'observer un moment où les deux parties de la colonne, séparées par le tampon, sont nettement différentes.

J'ai porté l'exemple des tubes de bouillon, mais on peut, aussi se servir d'autres récipients de formes différentes pourvu qu'il soit possible d'y appliquer le tampon de ouate.

De quelle façon faut-il interpréter l'action du tampon de ouate? En premier lieu il faut exclure l'hypothèse que ce tampon répande dans le bouillon un « quid » qui favorise le développement des anaérobies. Si l'on enlève, en effet, la ouate, après avoir porté la bouillon à l'ébullition, ou bien si on ne le chauffe pas, les anaêrobies ne se développent point. Il semble plus probable que la ouate agisse:

Ier) en maintenant dans le bouillon qui est au dessous, et pendant un laps de temps suffisant pour permettre le développement des bactéries, l'état d'anaérobiose dû au chauffage: on peut ainsi se donner une raison du développement des anaérobies.

1) pour toutes la hauteur de la culonne liquide lorsque la ouate est dans la position *c*;

2) au début, lorsque la ouate est dans la position *c*, seulement dans la pertie inférieure de la colonne.

IIème) en permettant le développement des anaérobies dans le bouillon qui l'imbibe, où, par effet du chauffage, il se forme un ambiant anaérobique, d'où les bactéries, en se multipliant, se répandent dans le liquide

voisin, et, en conséquence, aussi au dessus du tampon lorsqu'il est dans la position *a*.

Cette interprétation du mécanisme d'action de la ouate hydrophile permet de croire qu'il est possible d'obtenir les mêmes résultats en se servant d'autres systèmes qui reproduisent les mêmes conditions.

Laboratoire de Micrographie et de Bactériologie de la « Direzione Generale di Sanità Pubblica ». – Rome.

PROVERA P. – **Nouvelles recherches sur l'immunité antilipoïdée.**

Les résultats d'une première série de recherches ont été publiés, sur le fasc. VII.ème, juillet 1930, de ce même Bulletin (Dessy G. et Provera P., *Recherches sur l'immunité anti-lipoïdée*). Elles avaient pour but l'étude du pouvoir floculant des anti-sérums, obtenus avec des antigènes contenant des protéines, par rapport aux extraits lipoïdiens correspondants: ce pouvoir floculant fut étudié vers les lipoïdes des hématies et vers les lipoïdes du sérum de différentes espèces d'animaux.

Les recherches qui font l'objet de cette note, regardent les *Lipoïdes extraits des organes.*

Les lipoïdes furent extraits en suivant la technique de Bordet: séchage, traitement avec de l'acétone pendant huit jours, élimination de l'acétone, nouveau séchage, traitement avec de l'alcool à 95° pendant 48 heures, concentration à sec de l'extrait alcoolique, que l'on reprend ensuite avec de l'acétone, filtration, séchage, reprise avec de l'alcool absolu.

Avant de s'en servir on évapore l'alcool, on émulsionne le lipoïde avec de l'eau distillée, et l on ajoute ensuite le 6% de chlorure de sodium.

De cette façon on a extrait les lipoïdes du foie, de la rate, du rein, des muscles.

En se servant de ces organes on a préparé des extraits aqueux, avec lesquels on traita, par voie intraveineuse, un certain nombre de lapins.

On essaya ensuite, l'extrait lipoïdé de chaque organe vers les anti-sérums obtenus avec l'inoculation des extraits aqueux correspondants, c'est à dire:

Lipoïdes du foie	*Lipoïdes de la rate*
Sérum anti-foie	Sérum anti-rate
» anti-rate	» anti-foie
» anti-rein	» anti-rein
» anti-muscle	» anti-muscle

Lipoïdes du rein:	*Lipoïdes du muscle*
Sérum anti-rein	Sérum anti-muscle
» anti-foie	» anti-foie
» ahti-rate	» anti-rate
» anti-muscle	» anti-rein

Aucune de ces expériences n'a donné de floculation, ni spécifique ni aspécifique, bien que les anti-sérums fussent actifs vers les extraits aqueux par rapport auxquels ils avaient été préparés. Contrairement à une certaine spécificité zoologique, que nos recherches précédentes avaient démontrée il ne m'a pas été possible de démontrer, pour ces cas, aucune spécificité d'organe, même pas pour les lipoïdes dans leur qualité d'aptènes.

***

Etant donnés les résultats fournis par les recherches précédentes et malgré la négativité de ces dernières sur les lipoïdes des organes, j'ai continué l'étude du pouvoir antigène « in vivo » des lipoïdes qui avaient été l'objet des recherches précédentes et de celles décrites plus haut.

On prépara les extraits lipoïdiens selon la méthode de Bordet, avec lesquels on traita des lapins par voie intraveineuse. Une autre série d'animaux fut traitée avec des mélanges d'extraits acétoniques, alcooliques et éthérés des différentes substances organiques.

Les expériences furent faites par rapport aux lipoïdes suivants:

A) *Lipoïdes des globules rouges:*	B) *Lipoïdes du sérum*	C) *Lipoïdes des organes*
mouton	mouton	foie
boeuf	boeuf	rate
cheval	cheval	rein
chien	chien	muscle
	pore	
	poulet	
	homme	

On essaya ensuite chaque extrait par rapport à l'anti-sérum correspondant et aux anti-sérums du même groupe pour en déterminer le pouvoir floculant.

Les résultats obtenus furent complètement négatifs, non seulement avec les lipoïdes du groupe *C* et avec ceux des groupes *A* et *B* qui, lors des recherches précédentes, n'avaient demontré aucun pouvoir d'aptènes, mais aussi avec les lipoïdes qui, auparavant, avaient fourni des résultats

positifs (hématis de mouton, de boeuf, et de chien, sérum de chien, de poulet et d'homme). Les résultats furent négatifs pour les antisérums obtenus avec les lipoïdes préparés selon la méthode de Bordet, et pour ceux obtenus avec les mélanges des fractions: alcoolique, acétonique et éthérée.

Un animal seul, traité avec les lipoïdes de foie de boeuf extraits selon la méthode de Bordet, fournit un anti-sérum qui floculait ces lipoïdes: mais il ne floculait point les lipoïdes des autres organes, ni ceux du foie de cheval. Ce phénomène ne se répéta point au cours des expériences successives; on ne peut donc faire aucune affirmation en se fondant sur ce fait isolé, car les causes de ce comportement nous restent inconnues.

La conclusion que l'on peut faire d'après ces nouvelles recherches et d'après celles précédentes sur les lipoïdes considérés est qu'aucun de ceux-ci ne possède les qualités d'un antigène complet, et seulement un petit nombre est doué de celles d'un aptène.

Pour compléter mes recherches, j'ai, en dernier lieu, étudié le pouvoir antigène de quelques lipoïdes d'origine végétale.

En se servant de lécithine cadmique provenant de la semence de soja, Dessy avait obtenu, du lapin, des antisérums qui déviaient le complément en présence de cette lécithine. J'ai fait des essais avec les lipoïdes de la semence de soja et avec ceux extraits de l'orge et des petits pois.

Les lipoïdes furent toujours extraits selon, la méthode de Bordet, et on en prépara les anti-sérums correspondants.

On fit les épreuves de déviation du complément et celles de floculation, en présence de différents anti-sérums pour chaque extrait.

Les résultats ont toujours été complétement négatifs, car aucun cas n'a donné ni la déviation du complément ni la floculation. Les lipoïdes de la soja, des petits pois et de l'orge n'ont pas démontré de posséder un pouvoir antigène.

Les résultats de mes expériences, qui sont différents de ceux obtenus précédemment par Dessy, par rapport à la déviation du complément avec les extraits des semences de soja, ne peuvent être expliqués qu'en tenant compte de la méthode d'extraction différente du lipoïde qui possède ainsi d'autres propriétés chimiques et physico-chimiques, dues précisément à la méthode d'extraction: les résultats négatifs de mes recherches ne diminuent donc pas la valeur des résultats positifs obtenus sous d'autres conditions d'expérience.

Il m'a semblé utile de publier les résultats, bien que négatifs, de ces nombreuses recherches, afin de pouvoir les confronter avec ceux des expériences précédentes. Le fait d'avoir obtenu, pour certains lipoïdes, des résultats positifs, et d'en avoir obtenu de ceux négatifs pour d'autres, en suivant la même technique, permettrait d'affirmer que seulement certains lipoïdes possèdent une activité antigène.

La diversité des résultats est vraisemblablement due à la constitution chimique différente des substances qui ont été groupées comme lipoïdes. Pour continuer ces recherches il sera nécessaire de faire de rigoureuses études chimiques sur la structure des différents lipoïdes qui servent comme antigènes et sur leur degré de pureté. Seulement alors on pourra affirmer ou nier, sans doute possible, les propriétés antigènes de certains lipoïdes.

Institut Sérothérapique de Milan – Laboratoire de M. le Prof. G. Dessy.

CERRUTI C. G. et SOLLAI G. – **A' propos de la diffusion de l'infection due à Br. Paramelitensis chez les ovines dans la Sardaigne.**

Par une communication qui a déjà paru dans ce même Bulletin (F. III, p. 69), nous avons relaté l'étude bactériologique que nous avons faite sur 5 souches de Brucella isolées en Sardaigne des lacto-cultures, et, sur la base des résultats obtenus, nous avons rapporté au groupe *melitensis* 3 souches à origine ovine et au groupe *paramelitensis* 2 souches à origine caprine.

Après avoir établi de la sorte que dans la Sardaigne il est possible d'isoler des animaux, non seulement la *Brucella melitensis* classique, mais encore la variété *paramelitensis*, nous avons estimé bon d'entreprendre des recherches afin d'avérer, à l'aide de réactions sérologiques, si chez les brébis et les chèvres on a plus fréquemment des infections soutenues par le *melitensis* ou plutôt par le *paramelitensis*.

À l'occasion de la Séance qui eut lieu le 8 de mai passé, à la « Società fra i cultori di Scienze Mediche e Naturali » à Cagliari, nous avons communiqué les résultats des premières recherches que nous avions conduites sur quatre troupeaux de chèvres fortement suspects d'être atteints de l'infection *melitensis*, et parmi lesquels ils s'étaient vérifiés plusieurs cas d'avortement. En effet, lors de ces premières recherches d'orientation, nous avions obtenu sur 49 échantillons de sérums pris en examen, une seule séro-réaction positive autant pour le *melitensis* que pour l'*abortus*, une séro-réaction positive pour le *melitensis*, l'*abortus*, et le *paramelitensis*, 44 séro-réactions positives pour le seul *paramelitensis* et 3 séro-réactions négatives. Parmi les deux troupeaux appartenant respectivement au Frères Fenu de Serbariu et à M. Raffaele Casu de Terralba, tous les animaux examinés étaient infectés (17), tandis que le pourcentage moyen

des animaux infectés de tous les quatres troupeaux équivalait au 91,83 pour cent.

Etant renseignés par les recherches susmetionnées, nous avons estimé intéressant de voir si aussi chez les brébis l'infection due au *paramelitensis* est plus repandue en comparaison de l'infection due au *melitensis*, analogiquement à ce qui arriverait chez les chèvres. Ces premières investigations ont été conduites sur 6 troupeaux de brébis, dont 4 étaient fort suspectés d'être atteints de l'infection, en vue de nombreux cas d'avortement constatés, tandis que 2 étaient apparemment indemnes.

Ce sont précisément les résultats obtenus par ces recherches que nous allons relater ici, mais nous proposons d'étendre plus largement les recherches mêmes, afin d'établir qu'elle est la diffusion réelle de l'infection, prenant en considération aussi d'autres espèces animales négligées jusqu'ici.

L'infection fut constatée en soumettant le sérum des brébis à la réaction agglutinante de Wright, préparée suivant la technique habituelle et essayant chaque échantillon de sérum, non pas soumis au chauffage, avec deux souches de *Brucelle*, c'est-à-dire avec une souche bien agglutinable de *melitensis* (souche Rome de l'Institut d'Hygiène de Rome) et une souche de *paramelitensis* isolée en Sardaigne (souche Serbariu à origine caprine). Nous n'avons pas trouvé nécessaire d'essayer aussi une souche d'*abortus*, car dans nos investigations précédentes nous avions obtenu dans tous les cas une correspondance parfaite entre *melitensis* et *abortus*.

Voici les résultats auxquels nous sommes parvenus:

1) Troupeau ravagé par l'avortement, au patûrage dans la localité « Funtana a Mare » de la Commune de Gonnesa. Le 15 mai nous avons prélevé 17 échantillons de sang parmi les animaux du troupeau en question. Les séro-diagnostics ont donné les résultats suivants: 16 sérums ont agglutiné le *paramelitensis* (4 au titrage de 1 : 2000, 3 au titrage de 1 : 1000; 6 au titrage de 1 : 700; 3 au titrage de 1 : 400); aucun sérum n'a agglutiné le *melitensis* et un sérum seulement a donné une séro-réaction négative pour le *paramelitensis*.

2) Troupeau apparemment indemne de *melitensis*, appartenant à la « Società Mineraria » de Bacu Abis, de la Commune de Gonnesa. Le 15 mai nous avons prélevé 15 échantillons de sang. Les recherches sérologiques ont été négatives pour le *melitensis*; par contre, 8 sérums ont agglutiné le *paramelitensis* (un au titrage de 1 : 2000; 3 au titrage de 1:1000; 3 au titrage de 1 : 700, un au titrage de 1 : 1000) et 7 sérums ont donné une séro-réaction négative.

3) Troupeau ayant le 30% d'avortements, appartenant à M. Nicolino Quartu de St. Nicolò Gerrei. Le 6 juin nous avons prélevé, chez

ce troupeau, 10 échantillons de sérum qui ont tous agglutiné le *paramelitensis* et non pas le *melitensis* (3 au titrage de 1 : 700; 2 au titrage de 1 : 400; 3 au titrage de 1 : 200; 2 au titrage de 1 : 100).

4) Troupeau ayant environ le 30% d'avortements, appartenant à M. Nicolino Furcas de St. Nicolò Cerrei. Sur les 13 échantillons de sang prélevés le 6 de juin, nous avons obtenu 11 séro-réactions positives pour le *paramelitensis* (un sérum a agglutiné le *paramelitensis* au titrage de 1 : 1000, un au titrage de 1 : 400; 4 au titrage de 1 : 200; deux au titrage de 1 : 100; 3 au titrage de 1 : 70); les séro réactions ont été, au contraire, négatives pour le *melitensis* et seulement 2 sérums n'ont pas agglutiné le *paramelitensis*.

5) Troupeau appartenant à M. Daniele Arba de St. Nicolò Gerrei. D'après les déclarations du propriétaire on n'aurait jamais constaté des avortements parmi les animaux de ce troupeau. Sur 13 échantillons de sang prélevé le 6 juin, nous avons obtenu 9 réactions positives pour le *paramelitensis*, aucune séro-réaction positive pour le *melitensis*; seulement 4 sérums n'ont pas agglutiné le *paramelitensis* (3 sérums ont agglutiné le *paramelitensis* au titrage de 1 : 1000, un au titrage de 1 : 400, 3 au titrage de 1 : 200; 2 au titrage de 1 : 100).

6) Troupeau appartenant à M. Raimondo Caboi de St. Nicolò Gerrei; le propriétaire n'a pas été à même de nous donner aucun renseignement à propos de l'infection *melitensis* qui dominait parmi ses brébis. Le résultat des réactions agglutinantes apprêtées moyennant 14 échantillons de sérums prélevés le 6 de juin, a été le suivant: un sérum agglutina le *melitensis* au titrage de 1 : 200 e le *paramelitensis* au titrage de 1 : 70; 2 sérum ont agglutiné le *melitensis* respectivement aux dilutions de 1 : 100 et de 1 : 400, et le *paramelitensis* à la dilution de 1 : 700; 10 sérums ont agglutiné le seul *paramelitensis* (2 au titre de 1 : 2000; un au titrage de 1 : 1000; 3 au titrage de 1 : 200; 3 au titrage de 1 : 100; un au titrage de 1 : 700), un seul sérum a donné une agglutination négative.

En résumant, donc, sur les 82 échantillons de sérum de brébis examinés, nous avons eu trois réactions positives pour le *melitensis* en même temps que pour le *paramelitensis*; 64 réactions positives pour le seul *paramelitensis* et 15 réactions négatives.

Les résultats de ces premières investigations que nous avons entreprises doivent être pris en considération, car ils nous démontreraient que les chèvres et les brèbis sont plus tréquemment infectées par le *paramelitensis* que par le *melitensis* et que cette infection dominerait bien largement dans les troupeaux, avec un pourcentage qui parfois peut arriver jusqu'au cent pour cent du nombre effectif des troupeaux mêmes.

L'existence en nature d'infections soutenues par le *paramelitensis*,

décélées à l'aide des séro-agglutinations préparées moyennant des antigènes strictement spécifiques, nous expliquerait encore la raison pour laquelle, au cours de nos recherches épidémiologiques que nous avons pratiquées moyennant des souches de *melitensis* et d'*abortus* pour les séro-diagnostics (« La Nuova Veterinaria «, 1931, F. 14), nous avons-constaté, parfois, un pourcentage bas des animaux infectés, analogiquement à ce que d'autres AA. en de différents pays, ont pu constater.

Nos observations nous autorisent à affirmer que la séro-agglutination faite en employant des souches bien agglutinables de *paramelitensis*, *melitensis* ou *abortus*, est apte à déceler avec certitude, l'infection dans un pourcentage de cas fort élevé; neanmoins on n'est pas autorisé à exclure l'infection, même sur la base de séro-réactions apprêtées uniquement en essayant des souches de *melitensis* ou d'*abortus*.

Il se peut que les résultats obtenus au cours de ces premières recherches, que nous allons étendre largement à d'autres troupeaux de brébis et de chèvres, doivent subir des changements, mais, jusqu'à ce moment il est bien certain que les cas d'infection des animaux soutenues par les *paramelitensis*, surpassent de beaucoup ce qui sont provoqué par les *melitensis* classiques, contrairement à ce que l'on croyait jusqu'ici.

Il serait très intéressant d'étendre les recherches sérologiques, que nous venons d'avoir entreprises chez les brébis et les chèvres, aussi à la maladie de l'espèce humaine, afin d'établir l'origine *paramelitensis* de quelque cas de fièvre ondulante qui a échappé jusqu'à présent aux recherches ordinaires. Et il serait de même utile d'étudier systématiquement, au point de vue bactériologique, les souches de *Brucelle* qu'on isole des hémocultures humaines, afin de savoir s'il y a une plus grande fréquence de souches à rapporter aux *melitensis* ou plutôt aux *paramelitensis*.

En tous cas, la proposition faite par M. Bournet est bien juste. Cet A. recommande de pratiquer les réactions mêmes, moyennant un *melitensis* et un *paramelitensis*, afin d'éliminer les échecs qui parfois s'accompagnent aux séro-diagnostics.

Station Expérimentale de la Sardaigne pour les maladies infectieuses du bétail. Section de Cagliari.

CALISTI E. – **De la présence du bactériophage dans les eaux potables.** (Note préventive).

Entrevu précédemment par plus d'un savant, précisé dans son essence et dans ses caractères par d'Hérelle, le principe opérant la lyse microbienne a été ensuite l'objet d'innombrables recherches toutes faites dans le but d'en vérifier la constitution, la diffusion dans la nature, la fonction. De très nombreux auteurs se sont particulièrement occupés de le rechercher dans les eaux superficielles. Gardenghi le premier en démontrait la présence à la surface de la membrane biologique des filtres à sable et pensait qu'il concourait à l'épuration dans les filtres eux-mêmes. Il fut suivi en cela par Rodinò, qui confirmait sa découverte et son interprétation. La fonction d'auto-dépuration avait été aussi attribuée au bactériophage présent dans les eaux superficielles (fleuves, etc.). En face du nombre exceptionnel de travaux auxquels le bactériophage a donné lieu, dans le but de résoudre tous les problèmes qui lui sont connexes, les recherches faites pour établir la présence et l'importance du principe lytique dans les eaux destinées à l'alimentation sont, au contraire, rares. Cependant l'argument méritait de retenir l'attention non seulement au point de vue bactériologique mais encore surtout au point de vue des applications à l'hygiène, particulièrement pour ce qui regarde le diagnostic de potabilité. Pour ce que j'en sais, Fabry (1) le premier examinait la question et par des recherches appropriées conduites sur 32 echantillons d'eau, ayant trouvé le bactériophage sur 15 d'entre elles, il concluait que, pour une eau potable, la démonstration de la présence du bactériophage a de l'importance, étant donné les considérations suivantes: que l'activité du bactériophage est liée à la présence des microbes vivants et lysables et qu'il provient de l'intestin et par conséquent peut représenter un indice de corruption de l'eau; que son activité peut masquer la présence du colibacille; que, enfin, un terrain qui laisse filtrer le bactériophage jusqu'à une couche d'eau, peut bien aussi laisser passer à l'occasion des formes filtrantes de microbes pathogènes. Renaux s'élevait contre cette idée et dans une séance de l'Académie Royale de Médecine de Belgique soutenait: que la recherche du bactériophage pour le diagnostic de potabilité des eaux n'a pas une grande importance et qu'elle ne fournit pas un bouveau moyen d'investigation à l'hygiéniste, que par conséquent il était inutile de l'ajouter aux analyses ordinaires de chimie et de bactériologie. Bruynoghe confirmait ne pas devoir attribuer une importance excessive

(1) Il avait été en réalité précédé en Italie par Ferretti, qui avait fait une étude sans cependant en tirer des conclusions servant au diagnostic de potabilité.

à la présence du bactériophage, bien aboutissant à la conclusion qu'il était mieux qu'une eau potable n'en contienne pas. Neri, se référant aux recherches de Fabry, remettait à des expériences ultérieures l'établissement de l'importance que pouvait avoir, pour le diagnostic de la potabilité de l'eau, la recherche du bactériophage.

Pour essayer de contribuer à cette question jusqu'à cette heure à peine ébauchée, j'ai longtemps entrepris des recherches appropriées sur des échantillons d'eau qui successivement m'arrivaient au Laboratoire. Les points que je m'étais proposé d'éclaircir étaient les suivants:

Ier) la recherche du bactériophage, spécialement de celui anticolicacillaire, peut elle apporter des données au diagnostic de salubrité d'une eau potable?

IIème) dans le cas affirmatif, la présence du bactériophage doit-elle être interprétée comme un élément défavorable de la même manière que la présence du coli, ou bien doit-elle être au contraire regardé comme un élément favorable, avec la signification de contribuer à l'auto-épuration de l'eau conformément à ce qui est généralement admis par exemple pour le bactériophage dans les fleuves ou dans les filtres à sable?

IIIème) la présence du bactériophage peut-elle éventuellement masquer la présence di colibacille?

J'avais soin de recueillir pour chaque échantillon toutes les remarques susceptibles de servir au diagnostic de potabilité dont on pourrait tirer des déductions générales. De l'étude des conditions locales de la source; de l'examen chimique sommaire; de l'analyse bactériologique générale; on tirait trois conclusions distinctes dans le but de voir quelles seraient les qualités de l'eau qui accompagneraient la présence éventuelle du bactériophage. La recherche du principe lytique avait été faite suivant la technique habituelle, en mélangeant des quantités égales d'eau à l'examen et de bouillon ordinaire (pH 7,2-7,4); filtrant aussitôt par Chamberland L 3 la moitié du mélange, l'autre moitié après l'avoir maintenue à 37° pendant 18 heures, ajoutant ensuite à des tubes de bouillon ordinaire (pH 7,2–7,4) des quantités différentes de chaque filtré et une anse de culture en bouillon de 18 heures de souches lysables mais non lysogènes, sans négliger de contrôler soit la stérilité du liquide filtré, soit le développement de la culture privée du liquide filtré; de tous les tubes de bouillon, après 24-48 heures d'étuve à 37°, on les avait fait passer sur gelose incliné ou solidifié en plaques et de 24 en 24 heures on répétait les passages et on procédait à de nouvelles filtrations des tubes de culture pour tenter d'exciter, selon la technique préconisée par d'Hérelle, l'activité d'un bactériophage éventuellement présent mais peu actif. Je n'ai jamais outrepassé

la quatrième ou cinquième expérience de passage et filtration, ne croyant pas utile de prendre en considération l'existence éventuelle des principes lytiques d'une activité tellement moindre qu'elle ne pouvait être mise en évidence à ce moment-là. La recherche laborieuse, pratiquée jusqu'aujourd'hui sur 15 échantillons d'eau, a jusqu'ici échoué complètement quant au premier et au deuxième point que je me proposais d'éclaircir: le principe lytique n'a été en effet retrouvé que deux fois (la première, l'anti-Shiga seulement; la deuxième, l'anti-Shiga et l'anti-coli ensemble), tandis que les échantillons d'eau étaient, par un autre ordre d'idées, considérés comme parfaitement potables, ou suspects, ou non potables. Il faut noter pourtant qu'on s'est toujours occupé d'eaux destinées à l'usage alimentaire même si elles étaient mauvais, mais jamais de celles qui sont absolument privées de toute préservation, on qui ne sont pas sujettes à d'importantes corruptions comme c'est le cas pour l'eau des fleuves. Mais justement je voulais m'occuper de ce genre particulier d'eaux. D'ailleurs, pour ce qui se rapporte au bactériophage anticolibacillaire, il est notoire que, quant à la lyse, le colibacille fait partie du groupe des expèces microbiennes hétérogènes (Alessandrini): toutefois la recherche en question reste excessivament difficile. Deux fois, par exemple, j'ai relevé, au premier passage, un début de lyse caractéristique, laquelle dans les successives passages s'est completement anéantie.

D'après ces considérations et d'après le resultat des recherches effectuées jusqu'ici, il ne semble pas prudent de conseiller la recherche du bactériophage en addition de la commune analyse bactériologique, parce qu'elle apporte des complications considérables de technique sans conduire pratiquement à d'appréciables résultats. Les deux échantillons d'eau dans lesquels on a pu démontrer la présence du bactériophage, pouvaient être considérés, à l'examen des conditions locales, comme suspects, suspects aussi à l'examen chimique, tandis que l'analyse bactériologique avait révélé un important contenu microbien avec d'abondantes colonies liquéfiantes, mais avec absence du colibacille. Dans ces cas, pouvait-on présumer que la démonstration de la présence du colibacille avait échoué à cause de la présence du bactériophage? Evidemment, oui, étant donné le résultat des autres examens pratiqués et en même temps le fait constaté que le bactériophage, pour se multiplier, a besoin de germes vivants (d'Herelle, Alessandrini, Fabry). Par conséquent, le colibacille y avait été, même si, maintenant, il était impossible de le mettre en évidence: ce n'est pas pour cela qu'il était moins vrai que les eaux fussent susceptibles de corruption. Puis-qu'on connait l'importance qu'on donne généralement à la présence du colibacille (une bonne partie du jugement bactériologique dépendant de sa présence ou de son absence), il est important d'établir avec certitude si ce fait que j'ai observé pourrait, dans

des cas semblables, se répéter éventuellement en donnant lieu à de fausse conclusions. Et c'est principalement dans ce sens que seront dirigé les recherches ultérieures.

Laboratoire Médico-micrografique de la Province de Pérouse.

GIORELLI G. – **Contribution à l'étude des bactériémies post-opératoires consécutives aux extirpations des dents infectées des chiens.**

Dans ces derniers temps la littérature concernant les bactériémies post-opératoires a été considérablement enrichie et, quoiqu'il existe des opinions discordantes avancées par les différents AA. à propos du pourcentage des bactériémies post-opératoires positives, il est prouvé, avec toute certitude, qu'on peut démontrer la présence de bactéries dans la circulation après des interventions septiques ou aseptiques, même s'il s'agit d'opération d'un légère entité.

Les recherches ont été initiées par MM. Winter et Schottmüller lors des interventions gynécologiques. M. Seifert, après des interventions septiques a constaté un pourcentage du 45% de bactériémies positives.

Les AA. qui, ensuite, se sont occupés de l'argument, sont nombreux; nous citérons MM. Rogozinski, Pusateri, Perez, Uffreduzzi, Fiori. Des recherches pour établir la présence d'une bactériémie post-opératoire en des cas cliniquement indemnes d'infections, ont été déjà pratiquées dans le même Institut de Bactériologie et Immunologie, par MM. Turco, Einaudi et Cuizza, à la suite d'interventions chirurgicales en général, ainsi qu'après des interventions dues à des tumeurs malignes, et après des laparotomies gynécologiques. Les résultats de ces AA. indiquent un pourcentage qui varie entre le 7 et le 10% de cas positifs. Les germes isolés étaient des microcoques, des streptocoques, des staphylocoques.

M. Roccia a étudié la bactériémie post-opératoire dans les interventions de la cavité orale, par rapport aux extirpations simples et compliquées et son travail et ses conclusions, ont apporté une contribution expérimentale au problème de la « Oral sepsis ».

De l'ensemble de ses expériences il ressort que des 50 interventions pratiquées sur la cavité orale, seulement deux ont montré la présence de germes dans le sang, en donnant ainsi un pourcentage du 4%. Toutefois, l'A. conclut comme suit: « l'entrée dans la cir-

culation et le transport à distance de germes, provenant de foyers infectieux dentaires et péri-dentaires, ne serait pas si facile comme plusieurs AA. l'admettent pour les cas normaux aussi ».

Il faut remarquer que tous les AA. tombent d'accord à propos de la courte duré de la bactériémie; les germes envahissant la circulation sont rapidement détruits et éliminés par les forces défensives de l'organisme.

Sur la base de ce que je viens d'exposer ici, j'ai continué les recherches sur la bactériémie post-opératoire chez les animaux, en bornant mes observations aux extirpations des dents, préalablement infectées par voie expérimentale.

Comme animal d'expérience j'ai choisi le chien, car il offre la possibilité d'un prélèvement de sang plus fort, relativement au poids, pour les ensemencements de contrôle, aussi bien que l'opportunité d'une infection dentaire assûrée. En outre, comme quelques AA. (Seifert), après avoir considérée la nature du germe présent dans le foyer infectieux et les conditions anatomiques du territoire de l'opération, affirment que si la manoeuvre dans le champ opératoire s'effectue plus longuement et dans une plus grande étendue la bactériémie opératoire se développe d'autant plus facilement, j'ai bien voulu me mettre dans les conditions optimales nécessaires pour obtenir un résultat positif.

On sait que la racine de la dent du chien est très longue et qu'elle ne se termine pas en correspondance de la gencive à la hauteur de la couronne, comme il arrive pour les dents de l'homme; mais cette racine s'avance fort distalement jusqu'à atteindre la zone occupée par la dent prôche et même au delà. Dans le chien, l'extirpation des dents donne un fort traumatisme, car elle exige l'emploi du scalpel pour la dissection de la parois alvéolaire.

Quant à la technique, je procédais de la façon suivante.

Après l'anesthésie parapicale des dents canines supérieures, droit et gauche, moyennant de la solution de tutocaïne au 2%, j'isolais soigneusement la dent et je la lavais avec de l'alcool. Moyennant une fraise ronde, monté sur un trépan électrique je pénétrais au niveau du collet, obliquement dans la chambre pulpaire. Ensuite j'extirpais le plus systématiquement possible, la pulpe coronale et radiculaire de la dent canine de droit, à l'aide d'un tire-nerfs ordinaire, tandis que je laissais intègre la pulpe du côté gauche. Je déposais ensuite, dans la chambre pulpaire, un öse de culture prélevée directement des tubes. La cavité de la dent était finalement clôse, à l'aide de ciment à l'oxyphosphate de zinc.

Au bout d'un à deux mois d'intervalle, je pratiquais, sous anes-

thésie générale éthérique, l'extirpation des deux dents canines, après quoi j'exécutais le prélèvement du sang de la veine saphène, respectivement après 5, 15, 30 minutes, une heure et 24 heures.

Je pratiquais la recherche en prélevant chaque fois 5 cmc. de sang, au moins, dont 2 étaient utilisés pour en ensemencement sur plaque d'agar, et 2 ou 3 étaient ensemencés en 200 cmc. de bouillon. Ces différents ensemencements étaient gardés à la température de 37 degrés, pendant quelques jours.

Les germes éventuellement présents étaient isolés à travers des repiquages successives et des sub-cultures, afin d'en étudier les caractères morphologiques, biologiques, culturaux et de pouvoir les identifier, en se basant sur les caractères mêmes.

Le poids des chiens était, en moyenne de 10-15 kg.; l'âge et le sexe de ces animaux étaient différents.

Les chambres pulpaires ont été infectées moyennant les germes suivants:

gonocoque, streptocoque, staphylocoque, b. de Bordet-Gengou, pyogènes associés à de différentes souches de *b. bulgaricum*.

Experiences.

Chien N. 1.

Bâtard; mâle; 10 kilos; 9 mois.
Inoculé le 26/1, moyennant strepto + ferment lactique.
30 Février: Bactériémie, au bout de: 5′ - 15′ - 30′ - 1 h. - 24 h: négative.

Chien N. 2.

Doberdamm; femelle; 10 kilos.
Inoculé le 6/3 moyennant le gonocoque.
11 Avril: Bactériémie, au bout de: 5′ - 15′ - 30′ - 1 h. - 24 h.: négative.

Chien N. 3.

Terrier; mâle; 10 kilos; 5 ans et demi.
Inoculé le 2/1 moyennant le streptocoque.
11 Mars: Bactériémie, au bout de: 5′ - 15′ - 30′ - positive; on a isolé une souche de dyplococcus; au bout de 1 h. et de 24 h.: négative.

Chien N. 4.

Loup; mâle; 20 kilos.
Inoculé le 30/2 moyennant le streptocoque.

10 Avril: Bactériémie, au bout de: 5′ - 15′ - 30′: positive; on a isolé une souche de microcoque; après 1 h. et 24 h.: négative.

Chien N. 5.

Terrier; femelle; 6 kilos.
Inoculé le 27/1 moyennant le staphylocoque.
13 Mars: Bactériémie, au bout de: 5′ - 15′ - 30′ - 1 h. - 24 h.: négative.

Chien N. 6.

Bâtard; mâle; 9 kilos.
18 Avril: Bactériémie, au bout de: 5′ - 15′ - 30′ - 1 h. - 24 h.: négative.

Chien N. 7.

Bâtard rouge; mâle; 7 kilos.
Inoculé le 24/3 moyennant le b. de Bordet G.
2 Avril: Bactériémie, au bout de: 5′ - 15′ - 30′ - 1 h. - 24 h.: négative.

De ces expériences il ressort que:

1) la bactériémie a été positive dans le 28,50%;

2) dans les cas positifs la bactériémie apparaît lors des premières 5, 15, 30 minutes consécutives à l'extirpation de la dent, pour disparaître rapidement;

3) la bactériémie a été toujours négative après une heure et après 24 heures à partir de l'intervention;

4) les germes isolés chez les animaux dont les dents avaient été infectées moyennant le streptocoque, étaient des souches de *micrococcus* et de *dyplococcus*.

Ces résultats seraient apparemment en contraste avec ceux des autres expérimentateurs; en effet ceux de MM. Turco, Einaudi, Cuizza sont positifs dans le 7-10% consécutivement à des interventions, aseptiques pour la plupart; ceux de M. Roccia sont positifs dans le 4% consécutivement à des interventions orales septiques, tandis que M. Seifert signale le 45% de résultats positifs après des interventions chirurgicales septiques. Mais il faut se rendre compte des conditions particulièrement favorables pour la bactériémie post-opératoires, dans lesquelles je me trouvais lors de mes expériences, à cause des germes introduits, ainsi que du fort traumatisme opératoire et de la quantité de sang prélevé par rapport au poids des animaux.

Les résultats de ces recherches nous amènent à inférer que, même en voulant exagérer — dans le champ expérimental — les conditions favorables à une bactériémie post-opératoire positive, cette denière garde toujours un pourcentage relativement bas, et que dans les cas positifs, la bactériémie est de courte durée.

BIBLIOGRAPHIE

Cuizza, Rivista Italiana di Ginecologia, vol. IX, 1929.
Einaudi, Giornale di Batter. e Immun., n. 9, 1929.
Fiori, Archivio Ital. di Chirurgia, Vol. XII, 1925.
Perez, Annali d'Igiene Sperimentale, Vol. VII, 1897 e Vol. VIII, 1898.
Pusateri, Annali d'Igiene Sperimentale, Vol. X, 1909.
Roccia, Nuova Rassegna di Odontojatria, n. 7, 1929.
Rogozinski, Bull. de l'Acad. de Cracovie, 1902.
Seifert, Zentralbl. f. Bakteriol., Vol. 95, 1925.
Turco, Giornale di Batter. e Immun., n. 6, 1927.
Ufreduzzi, Archivio Italiano di Chirurgia, Vol. 12, 1925.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie de la R. Université de Turin — R. Institut Supérieur de Médecine Vétérinaire — Clinique Médicale.

CASTELLI T. – **Développement symbiotique d'Azoto bactéries et de Clostrides azoto fixateurs sur les plaques de terre modelée.**

En faisant des recherches microbiologiques sur le sol, j'ai eu l'occasion de répéter les expériences de Winogradsky pour isoler et étudier les micro-organismes fixateurs d'Azote, en me servant de cultures sur plaques de terre modelée et de silex gélatineux.

L'examen des différents échantillons de terre m'a permis de confirmer les résultats obtenus par Winogradsky, et a mis en évidence une particularité dont l'importance justifie la description.

J'ai donc observé que, sur les plaques de terre modelée, parmi les colonies qui poussent après 24 ou 26 heures, il y en a de celles qui ont les caractères typiques des cultures pures d'*Azotobacter Chroococcum*, et qui, quelques jours après, prennent une couleur brune caractéristique; d'autres colonies, en outre, trois ou quatre jours après, se présentent plus on moins soulevées, à bulles, écumeuses, blanchâtres, pour lesquelles l'examen microscopique démontre qu'elles sont formées non seulement d'Azotobactéries mais aussi de clostrides azotofixateurs caractéristiques.

Winogradsky avait aussi observé le développement de ces clostrides

sur les plaques de terre modelée, et avait communiqué que ces germes se développent à l'intérieur de la masse terreuse et précisément dans les cavités produites par la pression des gas de la fermentation.

En mêlant la terre avec du caolin médicinal lavé, cet A. a obtenu un matériel plus plastique, qui forme des mamelons lorsqu'on le modèle: ces mamelons couvrent des cavités où il semble que seulement les colonies, micro- et macroscopiques de clostrides se développent.

Au cours de mes recherches, j'ai constamment observé, sur tous les échantillons de terrains, l'apparition de colonies produites par le développement symbiotique de clostrides et d'Azotobactéries.

J'ai donc tâché de me rendre compte de la cause de ce fait, et je puis affirmer, après avoir fait des expériences avec différents terrains plus ou moins compacts et en me servant de quantités d'eau différentes pour leur modelage, que les clostrides se développent plus abondamment dans les terrains compacts et humides que dans ceux moins compacts et peu humides.

On peut affirmer, comme conclusion, que dans les plaques de terre modelée, en suivant la méthode de Winogradsky, il se développent à la surface des colonies formées par des microorganismes azotofixateurs aérobies et anaérobies: l'une des deux espèces prévaut sur l'autre, selon les conditions physiques et mécaniques du sol.

Laboratoire de Microbiologie Agraire et Technique de l'Institut Agraire Supérieur de Perugia.

MONTEMARTINI L. – **La pathogénèse des maladies des plantes.**

(Relation au IIIème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'indépendance physiologique relative des organes végétaux et, jusqu'à un certain point, l'indépendance de leurs différentes parties les unes des autres, la grande facilité de leur régénération, l'absence de centres comparables au système nerveux, qui en puissent régler les corrélations, le manque d'éléments figurés circulants semblables aux éléments du sang, justifient l'orientation dite de l'*organicisme* dans laquelle est restée jusqu'ici la Pathologie végétale. Et à propos de cette dernière, l'on pourrait dire que la frase celèbre de Virchow: « Il n'y a pas de maladies générales, mais il y a des maladies locales » a toujours sa valeur.

Suivant cette orientation on a été entraîné à considérer et à chercher principalement les parasites, comme la cause déterminante des maladies,

et l'étude du phyto-pathologiste a été longtemps confuse — et elle l'est même à présent — avec l'étude du mycologiste et de l'entomologiste.

Dans un grand nombre de cas, même la thérapie est une véritable organo-thérapie: le viticulteur sait, par ex., que les traitements cuivreux à l'aide desquels il lutte contre l'épidémie la plus grave de ses vignes, doivent être étendus à toutes les feuilles et à toutes les grappes, de sorte qu'il est nécessaire de les répéter à mesure que les branches vont s'allonger et que de nouveux organes vont s'y développer, car les remèdes apportés aux feuilles se trouvant tout près des feuilles non traitées ne servent nullement pour ces dernières.

Pourtant, toute la vie de la plante est si intimement liée aux conditions variables du milieuu extérieur, à la lumière, à l'humidité et à la température surtout (1), qu'il est impossible, au cours de l'étude d'une de ces manifestations, quelle que ce soit, de faire abstraction de ces conditions et de l'action qu'elles exercent soit sur les organes singulièrement, soit sur l'organisme en total. Or, quand ces limites d'obscillation des conditions *optima* qui constituent la « *Breite der Gesundheit* » de Graebner sont dépassées, la plante ne meurt pas; elle mourrait si les limites plus étendus de la « *Breite des Lebens* » seraient dépassées; mais dans le premier cas, les fonctions de la plante sont plus ralenties ou sont troublées et cet état peut être considéré comme une maladie, Et, en effet, M. Sorauer (1908) le prend en considération même dans les maladies non parasitaires, qui sont les plus nombreuses et ouvrent la route aux parasites, en contribuant à créer chez les plantes un état de prédisposition (Sorauer, 1900; Montemartini, 1903).

* * *

Les défenses naturelles contre les parasites. — On peut dire pour les parasites des plantes (2) ce qu'on dit pour les parasites des animaux; c'est-à-dire que, tandis que le milieu est rempli de leurs germes (Fischer et Gäumann, p. 224, Istwanffi, Peyronel, 1914: ce dernier à constaté que les spores de quelques uns de ces parasites se trouvent suspendues,

---

(1) La composition chimique et la structure physique du terrein ont, elles aussi, une importance très grande pour la plante et elles peuvent être la cause de troubles physiologiques très sérieux. Mais ces facteurs ne sont pas sujets à des variations continuelles autant que les facteurs atmosphériques.

(2) En parlant de parasites vraiment pathogènes, je considère ici surtout les champignons qui pénètrent dans les tissus de la plante et non pas les parasites dites animaux (insectes phytovores à l'état de larve ou d'individu adulte); même contre ces derniers

dans une certaine quantité, même dans le pulviscule atmosphérique de nos villes) les épidémies sont relativement rares.

L'épiderme intègre constitue, même chez les plantes, une barrière qu'on surpasse avec de la difficulté, et les stomates qu'y s'ouvrent ne sont pas toujours aptes à favoriser l'entrée des parasites.

Mm. Gilchrist, Melander et d'autres AA. (voir Fischer et Gäumann, et Rivera 1929 et 1930) ont déjà démontré combien d'importance peut avoir l'épaisseur de la cuticule pour la défense de la plante contre certains parasites (*Ascochyta pisi*, *Aecidium berberidis*, *Botrytis cinerea*, etc.). Des observations semblables ont été faites aussi par Curtis, pour les champignons qui attaquent les fruits dans les magasins. D'après Nordhausen, *Botrytis cinerea* n'infecte pas les feuilles vieilles et intègres ayant une cuticule bien développée, tandis qu'elle pénètre, même sans qu'il y ait des lésions, dans les feuilles jeunes et dans les pétales. Et on a illustré même (Mc. Lean) les difficultés qui peuvent être opposées par certains stomates contre la pénétration d'autres parasites (*Pseudomonas citri*) et les relations qui passent entre le nombre, la grosseur, le fonctionnement des stomates et les infections (Pool et Kay pour *Cercospora beticola*, Hart pour la rouille du blé).

La défense mécanique de l'épiderme peut être renforcée aussi par un revêtement extérieur de poils (Rivera, 1928, pour *Septoria graminum*) ou de cire (Fischer et Gäumann) ou encore par des couches sous-épidermales de cellules mécaniques (Campanile pour *Helminthosporium allii*); ou bien elle peut être remplacée par des couches de liège, comme pour les pommes de terre; dans ce cas, le moment où ces couches vont se développer est très important pour la facilité plus ou moins grande des attaque (Conant).

---

la plante est parfois protégée grâce à un revêtement d'épines ou de poils, ou à une cuticule robuste, ou à une formation de brattées ou d'organes enveloppants sussidiaires, ou enfin grâce à la sécrétion de sèves acides, ou irritants, ou venineux etc.. Mais lorsque les parasites parviennent à surpasser ces défenses, ils exercent une action qui intérêt plutôt le traumatologiste que le pathologiste, exception faite pour ces cas (que je vais rappeler ici) où la piqûre de l'insecte ou la ponte de ses oeufs réalisent (ainsi que les traumatismes ordinaires) une action stimulant et donnent lieu à des gales ou à des déformations.

Habituellement, ler Traités et les Revues de phythopathologie étendent leur domaine d'étude aux insectes aussi et ils arrivent même à s'occuper des mammifères rongeurs, en suivant une conception plutôt pratique que scientifique, qui intéresse surtout les agriculteurs. Dans les Écoles d'Agraire, pourtant, l'enseignement de l'enthomologie est séparé de celui de la pathologie végétale qui embrasse seulement les maladies non parasitaires et celles qui sont dues aux cryptogames. Dans la législation phyto-sanitaire tout y est compris, même les sauterelles et les mammifères rongeurs, mais notre loi en matière, ne s'appelle plus loi « contre les maladies des plantes », mais bien plus opportunément loi « pour la défense des plantes cultivées ».

* * *

En plus de la défense mécanique il y a encore une défense chimique due à l'action inhibitoire de certaines substances existant dans les mêmes cellules épidermiques ou dans les cellules sous-jacentes.

Et à ce sujet l'on trouve intéressantes les études de Walter et de ses collaborateurs (Angell, etc.) sur *Colletotrichum circinans*, attaquant les oignons blancs et non pas les oignons rouges qui sont attaqués, par contre, quand on les dépouille de leurs tuniques externes colorées, où il existe, avec le pigment (si non identique à ceci) des composès phénoliques toxiques pour le parasite. Ces observations nous rappelent celles de Newton et de ses collaborateurs; eux-aussi, ils ont trouvé des composés phénoliques, libres ou dont la mise en liberté était facile, dans les variétés de blé résistant aux rouilles et ils ont observé que les sèves provenant des petites plantes de ces variétés exerçaient une action inhibitoire sur la germination des spores de ces parasites.

Une action inhibitoire semblable peut être réalisée même par l'acide tannique (Cook et Taubenhaus pour plusieurs espèces de *Glomerella*, *Colletotrichum* et *Gloeosporium*. Cook et Wilson pour plusieurs espèces de *Endothia*, exceptée la *E. parasitica*), et on ne peut pas exclure que les alcaloïdes aussi puissent exercer cette action en plusieurs cas (Nobecourt) et, ainsi que l'estime Comes, même les acides organiques, si communs dans toutes les plantes (1).

Il faut considérer aussi comme une barrière de nature chimique la présence, dans quelques plantes, de certains composés, dont la natures n'est pas bien connue, et qui s'opposent au développement, *in vitro*,

---

(1) L'hypothèse que la rusticité des végétaux et l'acidité de leurs sèves puisse expliquer leur résistance vis-à-vis de certains parasites, hypothèse qui fut posée d'abord par *Comes*, a été appuyée par nombre d'observations de M. *Wagner*, *Averna-Saccà*, *Degli Atti*, *Kirchner*, *Butler* (1918), *Tropowa Flor* et, tout récemment, par M. *Janke* (1930). D'après M. *Pantanelli* (1921) ce sont seulement les acides libres à basse molécule qui auraient une action défensive.

Au contraire, MM. *Scurti* et *Sica*, et M. *Petri* et *Catalano*, tout en reconnaissant à l'hypothèse de *Comes* un haut degré de probabilité, n'ont pas constaté l'existence d'une corrélation parfaite entre l'acidité des sèves, et la résistance aux maladies. Et de même, MM. *Paris*, *Arrhenius*, *Hurd-Carrer*, *Wille* ne croient pas que cette corrélation existe. Suivant M. *Lopriore* les acides seraient l'expression de l'activité de l'échange; il pense qu'ils puissent être, seulement par voie indirecte, un signe de résistance; M. *Draghetti* aussi leur attribuerait une action indirecte pour le rôle qu'ils joueraient dans les variations de la force osmotique du suc cellulaire.

Probablement la question n'a pas une seule solution; en effet, de la même manière que MM. *Cook* et *Wilson* ont observé que le tannin exercerait une action inhibitoire sur quelques espèces de « *Endothia* » et non pas sur d'autres espèces du même genre, il peut se faire qu'il existe des champignons ne resistant pas à l'action de certains acides organiques et d'autres qui, au contraire, peuvent ne pas en ressentir. Et on est amené a penser de la sorte, à cause de la disparité des conclusions auxquelles tant d'observateurs ont abouti, n'ayant étudié pas toujours le même matériel.

des parasites. D'après M. Bottini lorsque la sève des feuilles du cep « *Pinot* », qui resiste au mildiou, est jettée sur les feuilles d'autres ceps réceptifs, elle parvient à les protéger, en partie, contre l'attaque; suivant M.lle Benigni les sèves de la variété de maïs qui résistent le plus à la *nielle* entravent, pour ne pas dire qu'elles empèchet, la germination des clamydospores du parasite. Selon M. Petri (1930) la sève du bois des orangers renferme des principes thermostabiles (qui ne se trouvent pas dans le bois du citronnier) entravant le développement de *Deuterophoma trachiphila*, — qui est la cause du « mal sec » — sur les orangers et non pas sur les citronniers. D'après M. Vasuveda, les plantes de l'ail rendrment un principe thermolabile entravant l'accroissement d'un grand nombre de champignons et notamment de quelques uns d'entre eux (*Monilia fructigena*). Suivant M. Wagner des principes de cette nature seraient communs à toute plante saine; en effet, cet A. en inoculant des bactères ordinaires en des organes végétaux normaux, a mis en évidence qu'il y a des agglutinines, des lysines et d'autres substances toxiques qui en empèchent le développement.

Comment le parasite parvient à franchir les défenses naturelles. — Il faut penser à un affaiblissement des défenses mêmes, ou bien à une action de force, de la part du parasite, telle à lui permettre de surpasser les obstacles.

Les défenses mécaniques (épaisseur de la cuticule, reduction des stomates, revêtement de cire ou de poils, renforts de tissus mécaniques, etc.) varient avec l'âge des organes; elles peut varier aussi par suite des actions culturales (administrations des fertilisant, de l'eau, etc.) et elles peuvent être même supprimées à cause des traumatismes. Ce sont nombreux les parasites qui infectent les plantes seulement à travers les blessures pratiquées par l'homme ou par les animaux; et bien nombreux sont ceux qui, tout en pouvant infecter les plantes par une autre voie, pénètrent plus abondamment à travers les blessures. Le milliou de la vigne lui aissi, qui normalement pénètre par la voie des stomates et, par conséquent, seulement à travers la page inférieure des feuilles, peut entraîner, apres une grêle ayant produit des lésions sur les limbes, des infections violentes qui se manifestent même sur la page supérieure. Et, toujours pour ce qui concerne la vigne, il est caractéristique la manière de diffusion de *Coniothyrium diplodiella*, à savoir la cause de la pourriture blanche des grains, que M. Faes, en Suisse, appèle la *maladie de la grêle* car, après les grêles, elle présente un caractère notamment épidémique.

* * *

Les altérations de la défense chimique sont plus faciles et plus fréquentes, la composition des sèves végétales étant plus strictement liée aux conditions extérieures qui sont extrèmement variables. Dans ce champ là il peut arriver non seulement qu'en des conditions défavorables de végétation, ait à cesser, dans les plantes, la formation de ces substances qui, comme on l'a vu, peuvent exercer une action inhibitoire sur les champignons; mais il peut se donner aussi qu'elles soient remplacées par d'autres substances qui réalisent, par contre, une action d'attraction et qui favorisent et excitent aussi la pénétration des mycéliums, dans les tissus de l'hôte.

On sait en effet que dans les champignons le chimiotropisme est très développé. N. Büsgen, déjà en 1893 au cours de ses études sur les mycéliums germants de *Botrytis* et d'autres champignons, avait remarqué que la plante hôte excite chez eux non seulement une irritabilité de contact (*Berührungsreize*), mais aussi une *Ernährungsreize*, à cause de laquelle — ainsi que M. Miyoshi l'a observé — le tube germinatif de *Botrytis cinerea*, par exemple, ne parvient pas à pénétrer dans les cellules épidermiques du bégonia si elles ne renferment du sucre. Les propriétés chimiotropiques du mycélium des champignons parasites considérées par M. Vuillemin (1896) et rappelées le mieux à l'attention des savants par M. Miyoshi, ont été invoquées par Massée afin d'expliquer plusieurs phénomènes parasitaires; ensuite elles ont été illustrées à l'aide de l'expérience bien connue de M. Petri (1908) sur *Sclerotinia Libertiana*.

C'est par cela qu'on peut expliquer tant d'observations qui ne sont pas sans importance pour nous. M. Massée a vu, par exemple, que les infections dues à *Botrytis* sont plus faciles pendant la nuit, car c'est alors que les sucres se trouvent avec plus d'abondance dans certains organes végétaux; M. Munkelt a constaté que le froid provoque chez les pommes de terre un amas de sucres; Voglino (1903) a remarqué que le froid baisse considérablement la résistance des plantes vis-à-vis des parasites; M. Shevchanko a observé que lorsque *Cercospora beticola* est rare, on la rencontre pourtant notamment sur les plantes plus riches en sucre; M. Pantanelli (1921) a constaté la présence d'une plus grande quantité de sucres, d'acides à grosse molécule et de composés solubles d'azoto et de phosphore, dans les plantes de blé les plus atteintes par la rouille; M. Pantanelli encore (1914) et moi (1917) nous avons vu que les feuilles jeunes des chênes réceptives pour l'*oidium* sont caractérisées non seulement par une défense mécanique plus faible (cuticule pas encore développée) mais encore par la présence, dans leur tissus, d'une plus forte

quantité de substances azotées solubles. Et c'est encore pour *Botrytis* que M. Vasuveda a observé qu'elle se développe d'une façon modérée sur certains organismes et sur les pommes, non pas grâce à la présence de substances inhibitoires, mais à cause de la présence d'autres substances qu'on pourrait leur injecter avec succès; il s'agit ici de cas dans lesquels la défense chimique normale est absente ou vient à manquer, et elle est alors remplacée par des conditions tout à fait favorables à la pénétration du parasite.

* * *

Quant à l'action que le parasite peut développer, en certains cas, pour franchir la barrière mécanique ou chimique qui lui est opposée par la plante, M. Boyle a observé que pour ce qui concerne *Sclerotinia Libertiana* la cuticule serait transpercée moyennant la seule action mécanique exercée par les hyphes du champignon, tandis que dans *Botrytis cinerea* (Smith, 1902) on aurai d'abord la sécrétion d'une toxine qui tue les cellules et puis la sécrétion d'un enzyme qui entame la membrane.

M. Petri, lui aussi (1913) observa que *Cyclococonium oleaginum* parvient à perforer la cuticule des feuilles de l'olivier et à y pénétrer, moyennant un enzyme, la lipase, qui entame les substances de cire et les graisses de la cuticule même.

Et l'on connait l'observation faite par M. Sorauer (par Graebner), suivant laquelle, l'A., en poudrant les spores de *Botrytis cinerea* sur une feuille de Begonia qui, ensuite, fut entretenue dans l'humidité, a constaté que là où les spores mêmes ètaient nombreuses on remarquait bientôt des phénomènes de nécrose, alors qu'ils ne se présentaient pas là où les spores étaient isolées. D'après le pathologiste allemand, cela tenait au fait que ces spores ne produisaient pas de quantités d'enzymes suffisantes à déterminer l'infection. M. Nordhausen a observé la même différence entre les spores tombées en touts petites quantités dans de l'eau où les enzymes pouvaient atteindre une certaine concentration, et les spores tombées en de grosses gouttes, où la concentration ne pouvait jamais atteindre le degré nècessaire pour devenir virulente ([1]).

On connait aussi les observations faites par M. de Bary sur *Peziza sclerotiorum* dont le mycélium germant, placé sur la surface de l'hôte, reussit à percer l'épiderme et à pénétrer dans les tissus internes après un long délai, quand il est placé dans de l'eau seulement, car il forme, d'abord, des organes adhésifs et il sécrète des substances toxiques tuant

---

([1]) On ne peut pas exclure que cette sécrétion d'enzymes soit due toujours à cette *Ernährungsreiz* exercée par la plante sur le parasite, dont on vient d'avoir parlé. J'en parlerai encore dans la dernière partie de cette relation.

les cellules sous-jacentes, de façon à en recevoir la nourriture à travers la cuticule. Par contre, si ce mycélium est placé immédiatement dans une solution nutritive, la perforation et la pénétration se réalisent plus rapidement, sans que des organes adhésifs soient nécessaires.

Le *Mucor stolonifer* présente à peu près le même comportement (Fischer et Gäumann); ses spores placées dans une simple gouttelette d'eau sur l'épiderme intègre d'un fruit de tomate, germent, mais elles donnent un mycélium qui n'a pas la force de pénétrer et de produire l'infection, alors que les mêmes spores, placées, dans les mêmes conditions, dans une gouttelette de solution nutritive quelconque ont le pouvoir d'infecter.

C'est peut-être à cause d'une action quantitative de la même nature, c'est-à-dire parce qu'il y a une plus grande production d'enzymes ou de toxines, que plusieurs fois le mycélium parvient à supasser les défenses mécaniques et chimiques et à déterminer l'infection là où les spores toutes seules se montreraient impuissantes (Brooks 1907); et ce serait encore à cause de cette action que le mycélium s'étant précédemment nourri sur d'autres plantes ou en des substratums appropriés, parvient à pénétrer là où le mycélium directement provenant des spores ne pourrait pas pénétrer (Montemartini, 1899).

* * *

La défense active, interne, de l'organe attaqué. — Lorsque la défense externe ou, comment on peut l'appeler (Gaumann) statique ou passive, a été franchie, le parasite ou ses germes se trouvent en présence d'une défense active ou dynamique, due à l'immunité naturelle qui est propre de tout individu sain. M. Büsgen (1918) fut amené à penser à une telle défense, car en ayant inoculé à 171 espèces végétales appartenats aux groupes systématiques les plus différents, le champignon *Botrytis cinerea*, qui est essentiellement polyphage, il reussit à infecter beaucoup de ces espèces, tandis que plusieurs d'entre elles donnèrent un résultat négatif; tout cela n'avait pu être expliqué ni par la force de la cuticule, ni par le revêtement de cire, ni par l'absence des stomates ou par la présence de composés déterminés ayant une action inhibitoire, tandis qu'il était évident que certaines espèces, — lorsqu'elles sont saines — résistent ou peuvent néutraliser et rendre inoffensives les toxines sécrétées par le champignon.

On peut penser à tout cela, même lorsqu'on prend en considération l'observation faite par Mm. Melander et Craigie au cours des études susmetionnées, à propos de l'efficace défensive de la cuticule contre *Aecidium* des *Berberis*. Ces AA. ont constaté que parmi ces derniers il y

a des espèces lesquelles, tout en possédant une cuticule très mince, se présentent presque indemnes, grâce à une résistance qui leur est propre et qui tient à des causes intérieures.

M. Duffais, lui aussi, estime que la résistance aux rouilles de quelques variétés de blés ne possédant pas une citucule à épaisseur spéciale, soit liée à des causes physiologiques intérieures.

Et également pour les parasites animaux (phylloxera: M. Petri) pour lesquels on est enclins a admettre que tant de fois la résistance de la plante est due à l'irritabilité spècifique des protoplastes cellulaires vis-à-vis des piqûres du parasite, plutôt qu'à là composition chimique des sèves.

Et aussi cette défense active ou physiologique, de la même façon que les défenses passives mécaniques ou chimiques, et même plus que celles-ci, peut être sujette à des mutations et à des atténuations. C'est avec raison que M. Trotter, après avoir observé que certains champignons attaquent de préference les tissus pathologiques des galles au lieu des tissus normaux des mêmes plantes, a déjà affirmé que « un fait quelconque qui trouble même lérégement l'équilibre physiologique d'une plante, contribue à l'altération de l'ensemble intime des protoplastes et en diminue la résistance naturelle ».

M. Hendlung (Suède) a observé que les larges épidémies de mildiou des pommes de terre sont toujours consécutives à des périodes de siccité qui affaiblissent la turgescence des cellules, et *en diminuent la vitalité* quand, à cause des pluies pas trop abondantes qui surviennent, l'humidité de l'atmosphère va augmenter et la germination des spores du parasite en est favorisée.

À la suite d'observation de la même nature, M. Rivera, en Italie (1913, 1924, 1930) a été entrainé à affirmer d'une façon plus générale et à l'aide de données bien évidents, l'existence d'une relation presque constante entre turgescence et réceptivité, ce qui fut admis, tout récemment, même par M. Draghetti à propos des roullies des céréales [1].

Parmi les causes d'atténuation de la défense active il y a l'âge avancé de l'organe et aussi ses étaits physiologiques particuliers.

M. Nordhausen a constaté, par exemple, que *Penicillium glaucum* peut attaquer, en des conditions données, la cellulose, mais il n'attaque

---

[1] Il faut se rappeler que nombre de fois les mêmes conditions extérieures sont défavorables pour la végétation de la plante et qu'elles en diminuent le pouvoir de résistance active, en agissant, en même temps, sur le parasite dont elles diminuent le pouvoir d'attaque; mais bien souvent cette coincidence va manquer et l'on a alors les grandes épidémies. On devrait rappeler ici tous les cas recueillis par M. *Rivera* dans sa brochure dont nous avons parlé maintes fois, afin d'expliquer la prédisposition ou la réceptivité temporaire, si non permanente, et aussi parce que dans ces cas on considère la température comme un facteur tantôt limitant, tantôt provoquant les maladies cryptogamiques, l'humidité de l'air, l'humidité du terrein, etc.

pas le protoplasme de la cellule vivante; ce sont seulement les cellules des fruits mûrs ayant perdu l'aptitude à se régénérer, qui peuvent en être envahies. Également, *Alternaria radicina* (Scaramella) attaque les racines mûres des carottes qui opposent peu de résistance et qui renferment du sucre; elle ne se développe pas sur les racines jeunes. D'autres parasites attaquant les organes vieux et non pas les jeunes, ont été mentionnés par Mm. Fischer et Gäumann.

Moi, j'ai eu l'occasion d'observer en 1916 un phénomène de la même nature sur les feuilles des érables et des noisetiers attaqués par *Uncinula* et par *Phyllactinia,* qui pendant l'été se comportent comme des épiphytes, alors que pendant l'automne deviennent (et non pas à cause de la seule action de la baisse de température, mais avec toute probabilité et même surtout à cause du viellissement des tissus de la feuille) endophytes et parviennent à atteindre, par leur mycélium, les couches internes du mésophylle.

M. Vuillemin (1894) a observé que *Plasmopara pygmeaa* attaque seulement les feuilles jeunes de l'*Anemone ranunculoides,* mais elle peut envahir aussi les feuilles vieilles si ces dernières sont infectées par *Aecidium punctatum;* ça s'explique soit par la rupture de la défense mécanique constituée par l'épiderme, soit par la diminution de la résistance active des cellules déjà malades.

La façon particulière par laquelle se présentent, les infections de mildiou que, comme nous allons voir, (Müller-Thurgan) on peut observer sur les feuilles jeunes, adultes et vieilles de la vigne est due probablement à un pouvoir de défense physiologique différent, plus qu'à un différent développement de la cuticule (1).

La lutte entre le parasite et la plante-hote. — C'est présicément contre cette résistance active intérieure que se dirige l'action du parasite après sa pénétration dans les tissus de l'hôte: il va s'engager une vraie lutte, qui devient d'autant plus aigüe que l'action excitante réciproquement exercée, est plus active.

---

(1) Le fait observé par M. *Petri* (1913) suivant lequel *Cyclonium oleaginum* n'attaque pas les feuilles vieilles en train de tomber, parait contredire ce que nous avons dit plus haut. Mais il est expliqué par les modifications de nature chimique apportées, par le vieillissement, dans le contenu des cellules et même, dans le cas à l'examen, des membranes, de sorte que l'affaiblissement de la résistance active ne compense pas le manque d'action du chimiotropisme. C'est pour la même raison que les feuilles chlorotiques de la vigne, tout en se trouvant dans un état pathologique et de résistance active affaiblie, sont rarement sujettes aux attaques du mildiou (*Istwanffi*) et que les feuilles étiolées des chênes ne sont pas attaquées par l'oidium (*Rivera*, 1913). Au contraire, M. *Brooks* (1908) a observé que les feuilles étiolées de laitue sont infectées par *Botrytis cinerea* plus que les feuilles vertes et il pense que ce fait soit dû à la résistance active diminuée de leurs tissus, aussi bien qu'à la formation, dans leurs cellules épidermiques, de substances chimiotropiquement actives, ou à une modification de la composition chimique de leur cuticule.

Tous les phénomènes pathologiques tirent leur origine de cette lutte et c'est de son résultat qui va dépendre la résultat final de l'infection.

* * *

Pour ce qui se rapporte aux tissus de la plante attaquée, j'ai démontré, au cours d'un travail qui remonte à 1904, qu'à des degrés déterminés de développement, la présence des parasites dans les tissus mêmes, active le métabolisme cellulaire, c'est-à-dire qu'elle réalise une action excitante sur les différentes fonctions et que cette action excitante persiste pour un temps plus ou moins long; et à la fin, probablement quand le parasite prend le dessus, elle se transforme dans une action qui déprime. J'ai démontré encore que la respiration est excitée plus sensiblement et plus longuement que l'assimilation et pour ce qui se rapporte à cette dernière, elle est particulièrement ressentie par les *Uredinées* ainsi que j'ai pu le constater d'après des recherches spéciales instituées par moi sur *Aecidium clematitis* (1916). Même M. Vuillemin avait déjà observée l'action excitante de quelques *Aecidium*. M. Pavarino qui, pendant cette période, travaillait à Pavie avec moi, a confirmé et à précisé le mieux mes observations sur le mildiou de la vigne et il a même démontré, pour d'autres champignons (*Exoascus deformans*). que la respiration plus intense est accompagnée par une considérable production de chaleur, qui présente presque les caractères d'une réaction fébrile.

MM. Nicolas (1920) Kurssanow et tout récemment Maresquelle ont fait des observations semblables, qui démontrent une activ té excitée, surtout respiratiore ([1]), des tissus envahis par les parasites.

L'échange cellulaire excité, qu' est démontré surtout par la respiration plus intense, trouve son pendant en des altérations anatomiques,

---

([1]) Pas tous les AA. tombent d'accord avec les observations que nous avons faites à Pavie à propos de l'augmentation de l'assimilation chlorophyllienne. En effet les AA. suivants ont obtenus des résultats contraires aux nôtres: *Muller-Thurgau* (1895) pour le mildiou de la vigne; *Maire* pour les Urédinées pour lesquelles il admet pourtant une action générale du parasite excitant un accroissement plus rapide des organs envahis; *Maresquelle* aussi pour les Urédinées. On devrait penser que ces savants aient pratiqué leurs rechesches sur des organes déjà beaucoup malades, tandis que l'action excitante des phénomènes chlorophylliens doit être examinée seulement au début de l'infection.

Quant à la transpiration, toutes les observations qu'on a fait ont abouti à la même conclusion: c'est-à-dire qu'elle est plus marquée dans les organes infectés. Moi aussi je suis parvenu à ce résultat après des travaux successifs (1928) aux travaux susmentionnés et on peut dire le même pour *Kurssanow*, *Duffas* (1927), *Harvey*, *Nicolas* (1930). Seulement *Galloway* a soulevé une exception pour certaines Urédinées (*Coleosporium*) et pour le moment où, avant de rompre l'épiderme, elles ferment les stomates moyennant leur mycélium. Cependant, l'augmentation de la transpiration ne peut pas être considérée comme le symptôme d'un métabolisme cellulaire excité, parce qu'il est expliqué par une augmentation de la température ou par une augmentation de la surface de transpiration ou bien par la rupture de l'épiderme, ou enfin — ce qui, d'après mon avis, ne serait pas la dernière cause — par la propriété par laquelle le protoplasme peut retenir de l'eau, propriété qui, pourtant, peut être, en certaine cas, excitée elle aussi.

lesquelles démontrent que toutes les parties de la cellule, cytoplasme et noyau, mais surtout ce dernier, participent à l'échange même.

Déjà Vuillemin (1896) dans une brochure qui fut traduite en italien par notre Zubiani et qui trouva sa place dans le *Traité de pathologie générale et médicale* de M. Bouchard (Edition italienne par M. Silva) avait rappelé l'attention des pathologistes et mêmes des médecins, sur plusieurs faits qu'on connaissait déjà à cette époque, et qui montraient l'analogie existant entre la pathologie cellulaire des animaux et celle des végétaux.

Ces faits, interprétés la plupart comme des phénomènes de réaction défensive, surtout lorsqu'ils étaient accompagnés par le déplacement du noyau contre le parasite, — ainsi que MM. Nordhausen, Guttemberg et Riker ont pu les observer — sont aujourd'hui très nombreux.

Le grossissement du noyau, souvent suivi par des déformations et enfin par la dégénération chromatinique, fut décrit non seulement dans les cas cités par M. Vuillemin, mais aussi par M. Cavara (1896) à propos des racines de la vanille attaquées par un champignon indéterminé. Il fut décrit encore par M. Nawaschin et par M. Rowasek pour des racines de choux attaqueées par *Synchytrium* (les noyaux des cellules attaquées atteignent une grosseur qui dépasse même de 250 fois leur grosseur normale); par M. Reynolds pour des plantes attaquées par des *Urédinées;* par Stapp en des cancers végétaux provoqués par des bactéries; par Eptinion en des feuilles de pêchers infectées par Exoascus (il a observé aussi, au début de l infection, une augmentation sensible de chromatine); par M. Allen (1923) dans le blé attaqué par la rouille; par M. Gallaudi en des cellules de racines envahies par les sucoirs des champignons endophytes.

On a discuté si, dans le cas où les noyaux sont forcés de se diviser il y a aussi des divisions amythotiques, mais les observations et les affirmations des différents Auteurs ne concordent pas parfaitement.

À propos des feuilles du pêcher, envahies par *Exoascus*, M. Eftimion affirme que les noyaux se séparent directement et jamais par suite de cariocynèse; Levine (1924) a étudié les tumeurs dues à *Bacterium tumefaciens* et, tout en remarquant une plus grande activité des phénomènes de division cellulaire, affirme que leurs cours n'en est nullement altéré; pas même M. Riker (1927) est parvenu à observer dans les galles des divisions amythotiques dues à des bactéries, tandis que M. Reynolds (1912) en a constaté la présence chez des feuilles de giroflée et de potentille attaquées par *Puccinia*, et M. Tischer les a vues en des racines de *Circaea* infectées par des anguillules.

M. Küster (p. 336) aprés avoir rappelé ces observations et d'autres encore, fait remarquer que nous n'avons pas encore une pathologie de

la carjocynèse, D'après mon avis, il peut se faire qu'au début de l'attaque, la division des noyaux s'effectue d'une façon normale, mais ensuite, lorsque le parasite a pris le dessus et, par conséquent, les phénomènes d'excitation de toutes les fonctions sont remplacés par les phénomènes de dépression et de dégénération, il y a aussi, très vraisemblablement, des divisions amythotiques, qui normalement se vérifient en des cellules vieilles ne se séparant plus.

Le résultat du métabolisme excité peut être même la formation de substances qui, normalement, ne se forment pas et qui peuvent avoir aussi une action défensive: on a alors la modification de la réaction chimique des sèves cellulaires (Woolmann) où vont s'amasser, de préférance, des substances solubles (Montemartini, 1928) et où l'on constate que les composés azotés sont plus abondants (Gioelli); il y a aussi l'apparition des antocyanines et des substances tanniques (Lippman); et la disparition de l'amidon (Peglion) qui est consommé par l'activité réveillée des cellules (Vuillemin 1896).

En outre, lorsque les phénomènes susdits ne sont pas immédiatement suivis par la dégénération ou par la mort (Molliard 1897), l'activité des cellules de la chlorophylle peut se prolonger (Cornu, Montemartini, 1902 et 1916, Marquer), d'une façon presque identique à celle qu'on observe pour les cellules des algues entrelacées avec le mycélium des champignons, dans la constitution des lichens. On peut avoir aussi une prolongation de la végétation et une irrégularité dans toute la plante (Traverso, Peglion); un accroissement plus rapide des organes attaqués (Maire) et, parfois, on peut observer encore un accroissement et une formation extraordinaire des organes, c'est-à-dire des bourgeonnements et des floraisons précoces (Passalacqua, Fischer et Gäumann) ou irrégulières (Montemartini 1906; Smith 1916; Curzi 1925), un touffage plus abondant (Taliev), un allongement plus sensible (Kurosawa) ([1]) des changements de polarité, (Smit 1916; Riker, Stapp) des régénérations des organes (Kuster 1926), la paralysie des liens de correlation ainsi qu'on la voit chez certains balais de sorcière (Maresquelle), les phyllodies (Molliard 1898), un avorton de fleurs (Vuillemin 1895), ou de grains (Cappelletti 1929), l'apparition de caractères xéromorphiques (Kluchnicova), la for-

---

([1]) Pour ce qui a trait à l'action du mycélium intérieur des *Ustilaginées sur* les petites plantes de céréales qui en sont infectées, on ne peut pas affirmer que les observations faites par les différents Auteurs aient amené à des résultats concordants. En effet, *Kurssanow* a remarqué dans les plantes infectées une excitation sensible de toutes les fonctions et, pendant les premiers 20-25 jours, un allongement plus rapide en comparaison des plantes saines, tandis que, d'après *Morozov*, la hauteur de ces dernières atteignait des moyennes plus élevées en comparaison de celle des plantes infectées. M. *Buchheim* a observé dans les plantes infectées un touffage plus rapide et un plus grand nombre de feuilles.

mation de tissus et d'organes nouveaux ayant une structure plus ou moins irrégulière, suivant les descriptions que M. Kuster en donne dans son Traité d'anatomie pathologique bien connu. M. Vuillemin a remarqué à ce propos qu' en plusieurs cas, lorsqu'il s'agit de tissus peu différenciés, on constate chez eux presqu'un rajeunissement et l'on a des *méristèmes* secondaires dans lesqels les conditions anormales de formation peuvent éveiller des tendances héréditaires et latentes, donnant lieu à des phénomènes presque normaux (2) accompagnés du retour des organes à la forme phylogénétique originelle (Morgenthaler).

Tous ces phénomènes ne se présentent pas comme le résultat d'une action spécifique d'une parasite déterminé, mais plutôt comme la résultante d'une stimulation ou d'une excitation quelconque, pouvant être même due à des parasites animaux ou à d'autres troubles physiologiques, ou bien à des blessures, etc.

En effet, M. Cavara (1908) a observé une prolongation de l'activité vitale des cellules qui renferment la chlorophylle, même par suite de piqûres des cochenilles; M. Molliard décrit des hypertrophies et des anomalies nucléaires semblables à celles dont il est question plus haut, et étant provoquées par les phytoptides (1897), ou par les anguillules (1900), tandis que les dégénérations (*phyllodies*, rajeunissements, fasciations des organes dues à des acares sont assez communes (Montemartini 1896). Pour ce qui se rapporte aux troubles physiologiques, nous rappellerons ici les observations faites par M. Dufrenoy (1930) au sujet de la cytologie des maladies dues à des virus. Et enfin, pour ce qui concerne les blessures, on sait qu'elles aussi provoquent une excitation entraînant une respiration plus intense accompagnée de la formation d'oxydase (Krassnosselsky) et de la production de chaleur (Pavarino, Tiessen), de l'apparition de substances anormales (Ravenna et acide cyanidrique, Gioelli et Friedrich et substances protéiques), d'un grossissement et d'un déplacement des noyaux (Schüroff, Ritter), de divisions nucléaires par suite d'une mytose (Schüroff), d'une formation anormales des thylles (von Alten), d'un développement de *mérystèmes* secondaires et de tissus de cicatrisation (Appel, Montemartini 1927, Petri 1929, Wordlaw). Il est intéressant de remarquer que, d'après M. Cunningham et M. Wild, ces derniers se forment d'une façon ègale, par stimulation de blessure ou par action du parasite et que leur formation initiée par stimulation de blessure peut être excitée, mais non modifiée, par l'action du parasite (Montemartini 1927, Petri 1929, Rivera 1929).

(2) Cela vaut même pour les caractères cytologiques. Et en effet, M. *Lippmaa* en observant — ainsi qu'on l'a déjà dit — que la présence du parasite provoque souvent dans les tissus envahis, la formation d'antocyanine, a observé également que cela arrive seulement chez les feuilles dans lesquelles l'antocyanine se développe même en des conditions normales déterminées.

* * *

Pour ce qui se rapporte à l'action du parasite qui est pénétré dans les tissus de la plante-hôte, il arrive rarement que son mycélium se développe dans les espaces intra-cellulaires d'une façon si abondante qui lui consente de réaliser une action mécanique de pression et d'étranglement des cellules, comme il y a lieu chez certaines *Urédinées* (Montemartini 1902 et Hart), ou qui lui permet de fermer les stomates (Galloway). Et de même il n'arrive pas souvent que le parasite en question, lors de son développement dans les vaisseaux, se borne particulièrement à une action d'occlusion de ces derniers, ainsi qu'on le voit dans la maladie de l'esca de la vigne (Viala) et, bien rarement, dans les trachéomycoses qui amènent à la fanaison (Farneti).

Dans la plupart des cas il s'agit, au contraire, d'une action chimique, dont même M. De Bary fait mention. Et M. Vuillemin, dés 1896, en observant les phénomènes s'effectuant dans les cellules qui ne sont pas encore atteintes par les parasites, affirmait que ces derniers apportent dans les fonctions de la vie cellulaires des facteurs chimiques nouveaux. M. Cavara aussi (1896), à propos de ses observations, déjà mentionnées, sur les anomalies nucléaires, parle de stimulants chimiques.

Au cours de mon travail (dont il est question plus haut), au sujet des fonctions des organes parasités (1904) j'ai été amené à parler d'une sécrétion de substances toxiques due aux parasites, par analogie à l'action de ces derniers avec l'action des poisons à de doses infimes ([1]). M. Pavarino a imputé aussi à l'action de certaines substances toxiques produites par le champignon, les faits qu'il a observé.

Du fait qu'en pathologie animale tous les savants admettent que les microbes, ou du moins la plupart d'entre eux, donnent origine à des poisons chimiques, soit sous la forme de produits d'élimination ou de sécrétion de leur échange, soit sous la forme de dérivés de la décomposition de leur organisme après la mort, ce phénomène est généralement admis même en phytopathologie.

Et voici les différents AA. qui font allusion à des substances toxiques: M. Brizi, pour certains bactéries pathogènes des peupliers; M. Clayton à propos de la fanaison des tomates, due à *Fusarium;* M. Rosen toujours à propos de la fanaison due à *Fusaruim* frappant le cotonnier; MM. Hemmi et Matsuura pour toutes les flétrissures des champignons;

([1]) Voir à ce propos: *Pfeffer* (1912), *Montemartini* (1911, 1922) et *Bose, Blumenthal, Auler* et *Wallace* ont même obtenu des tuméscences, moyennant de petites doses d'acide formique, ou d'acide lactique ou bien de gas d'éthylène.

MM. Picado et Magrou (1926) à propos des actions à distance des parasites; M. Cappelletti (1930) en se rapportant à certains mycéliums mycorizogènes; M. Wardlaw pour *Botrytis cinerea*. M. Newton et ses collaborateurs, inoculant en des feuilles saines du sève appartenant à des feuilles malades, ont démontré l'existence de ces substances toxiques dans les rouilles des céréales; MM. Zoia, Harscle, Seto ont observé que les substances en question passent dans les liquides de culture à l'aide desquels on peut reproduire chez des plantes saines, les phénomènes pathologiques qui se présentent dans les plantes infectées. Même lorsque les altérations produites par le parasite se présentent seulement à peu de distance de ces phénomènes, les toxines passent dans le liquide de la culture, si elle est très âgée (Mercuri).

Quant à la nature chimique de ces substances toxiques, le problème a été posé en 1923 par M. Picado, au Congrès de phytopathologie de Strassbourg. Cet A. pourtant n'en a pas donné une solution univoque et il parle de toxines proprement dites, d'enzymes, ou bien de substances toxiques d'autre nature. Pour ce qui se rapporte à *Peziza sclerotiorum*. De Bary affirme qu'il s'agit d'enzymes; pour *Botrytis cinerea* — un des champignons les plus étudiés — M. Nordhausen (1899) parle de deux enzymes différents: l'un qui attaque la cellulose; l'autre qui empoisonne le plasme; M. Smith (1902) parle d'un poison qui tue les cellules (il s'agit probablement de l'acide oxalique) et d'un enzyme qui attaque la cellulose; M. Brown écarte l'acide oxalique et il parle seulement de ferments attaquant la lamelle moyenne de la membrane; M. Busgen affirme que le champignon sécrète un poison qui ne peut pas être rangé parmi les enzymes; enfin Wardlaw parle d'enzymes toxiques, Higgins parle d'une sécrétion d'acide oxalique même à propos de *Sclerotium Rolfsii*. Pour d'autres parasites, M. Smith (1917) fait mention à différentes substances (aldéhydes, acétones, acides, alcools, alcalis) qui résultent du métabolisme du *Bact. tumefaciens* ayant une vie intercellulaire. À propos de *Spongospora subterranea* M. Wild parle d'une façon générale, d'un sécrét stimulant; plus récemment, à propos des trachéomycoses déterminant la fanaison, Van Der Veen estime qu'elles soient dues à la sécrétion de substances encore ignorées, et Curzi aussi (1930) pense que les champignons dont il est discours, sécrètent des substances toxiques. Mais, dans la plupart des cas, l'on admet l'esxitence d'une sécrétion de substances de nature thermolabile enzymatique (Sorauer, Dei, Mercuri, Petri, 1930), toutes seules ou bien associées à des substances thermostabiles aussi (White). M. Trotter, qui, ainsi qu'on l'a vu, a étudié l'action des champignons qui vivent sur les galles (dont les tissus sont riches en tannin, étant donné l'excitation de l'échange a cause de la présence de l'agent galligène), a pu observer que quelques uns d'entre eux produisent la

tannase, c'est-à-dire un ferment qui leur consent d'utiliser le tannin (1).

Les observations cytologiques sur les champignons parasites, visant à déceler dans leurs cellules, avant qu'il se vérifie les phénomènes de dégénération qu'on a décrit pour certains endophytes, les symptômes d'une excitation due à la stimulation provenant de l'hôte, ne sont point nombreuses: M. Vuillemin (1984) a décrit des hypertrophies des sucoirs de *Aecidium* qui étaient dues pourtant à l'entrée d'un autre parasite dans la même cellule hôte; et M. Allen (1926) a observé dans le mycélium de *Puccinia Triticina* un comportement anormal surtout pour ce qui se rapporte au nombre des noyaux, mais il pense qu'on puisse l'imputer au manque d'une forme d'aecidium. On doit rappeler ici les observations de M. Lutz, Mencacci, Flor Volk sur les modifications de virulence et de germinabilité des spores, sur les dimentions et quantité des spores mêmes, sur la coloration du micelium etc., que la plante parasité peut provoquer dans les parasites.

* * *

Enfin pour ce qui se rapporte à l'allure de la lutte, la dernière observation de Trotter, citée plus haut, peut être un exemple de ce qu'affirme M. Marshallward (par Cook et Wilson), c'est-à-dire: la maladie dépend, en général, du pouvoir qu'un champignon possède de vaincre, au moyen de ses enzymes et de ses toxines, la résistance des cellules-hôtes et encore de la faculté du protoplasma de ces dernières de former des antitoxines qui détruisent les toxines du parasite.

MM. Mallmann et Hemstreet ont démontré, pour les bactéries de la pourriture molle des choux, que là où la maladie est très avancée le substratum se ramplit d'une substance (qui est probablement séparée de la plante-hôte) qui empêche le développement ulterieur du microrganisme pathogéne.

M. Simonet, d'autres savants, et récemment M. Kostoff, M. Nobe-

---

(1) À propos de l'activité chimique différente que les champignons parasites peuvent développer on doit se rappeler que, d'après *Letscher* et *Willaman*, le « *Fusarium lini* » causant la fanaison du lin, produit, en culture, même de l'alcool éthylique, et que d'après MM. *Labrousse* et *Sarejanni* (1930) il y a des champignons qui rendent acide le milieu où il vivent et d'autres qui le rendent alcalin; en outre il y a des champignons qui, vis-à-vis de certaines substances colorantes, produisent aussi des phénomènes d'oxidation et de réduction. Pourtant, les ferments qu'ils élaborent sont très important et cela ressort même de l'étude des parasites qui accompagnent la gommose (*Sorauer*, *Graebner*), de l'étude des basydiomycètes de bois (*Kohnstamm*, *Bavendamm*) et enfin de celle des maladies, dites maladies dues aux virus (*Graebner*, *Doby*, etc.).

D'ailleurs, on a vu que même pour les phanérogames parasites (*Colla*) il y a une sécrétion de ferments oxydants, à laquelle la plante hôte peut opposer des oxydases du même type.

court etc. se sont démandé, eux-aussi, si les plantes produisent de véritables anticorps à la suite de l'introduction d'antigène. MM. Carbone et Arnaudi, dans la bien précieuse contribution qu'ils ont apporté à ce chapitre de la phytopathologie ont longuement discuté ce problème et ils ont recueilli, pour le résoudre, une quantité d'observations à eux, et d'autres encore, puisées dans la bibliographie. Ils font entrevoir la possibilité d'une vaccination des plantes.

En tous cas, le cours et l'issue de la lutte entre parasite et hôte, qui ne sont, au fond, que le cours et l'issue de la maladie, peuvent être plus ou moins longues et amener à des résultats très différents entre eux.

Voici ce qui peut arriver:

1) La lutte se borne au grossissement de la membrane qui s'oppose à la pénétration du champignon (Young) ou bien à la formation d'une membrane nouvelle qui en incapsule les sucoirs (Zimmermann) ou en isole l'entier mycélium dans la cellule où il est pénétré.

Intéressants sont, à ce propos, les observations de M. Brullowa sur quelques *Vaucheria* envahies par un mycélium indéterminé: le protoplasma de l'hôte continue à se retirer vis-à-vis du mycélium envahisseur, en se revêtant, pour deux et même plusieurs fois, d'une membrane nouvelle, jusqu'à ce que le parasite s'épuise et la victoire est à l'algue, ou bien le parasite arrive à perforer la dernière membrane aussi et à rejoindre l'hôte et alors la victoire est au champignon.

2) Le parasite, après avoir vaincu la défense extérieure et avoir pénétré dans les tissus de la plante-hôte, s'arrête contre la défense active de ceux là et n'a pas de développement ultérieur. C'est le cas de *Melampsora lini*, pour les variétés résistantes du lin (Hart), de *Tilletia tritici* pour les variétés résistantes du blé (Woollmann) et de *Pucinia Sorghi* dans la tige des variétés résistantes du maïs (Wellensiek) (1).

3) Les premières cellules atteintes par le parasite meurent tout de suite et alors, tant pour les produits toxiques qui en dérivent, que parce que les cellules toutes proches, turgescentes et saines, l'écrasent, le parasite s'arrête chez elles. Ce sont les cas auxquels font allusion MM. Reynolds (1917) et Dufrenoy (1929) lorsqu'ils disent que les parasites à action violente tuent tout de suite les cellules atteintes sans qu'aucun changement ait lieu chez elles. C'est le cas de quelques *Peziza* (Nordhausen 1899) et de quelques formes de *Puccinia graminis tritici*, chez certaines variétés de blé, qui se comportent comme résistantes (Allen 1923).

---

(1) Un cas particulier a été tout récemment étudié par M. *Hanna*: les sporides aploïdes de « *Ustilago zeae* » donnent un micelium qui penètre dans les tissues de la plante parassitée, mais l'infection n'a pas lieu si deux miceliums aploïdes n'ont pas la possibilité de s'unir.

C'est pour la même cause que plusieurs champignons des feuilles empêchent la production de la liège de cicatrisation, car les cellules qu'ils frappent meurent rapidement et se sèchent (Cunningham). C'est pour un phénomène de nature analogue, que l'on doit attribuer à une diminution sensible de résistance chez les cellules de la plante-hôte, plutôt qu'à une virulence remarquable du parasite, le fait que dans les vieilles feuilles de vigne l'infection ne se répand pas, mais demeure localisée autour du centre infecté qui est bientôt sec (Müller-Thurgau). La maladie a, pour ainsi dire, une évolution rapide (maladie aigüe) et, si de nouvelles infections n'arrivent point, elle s'achève par la guérison.

4) Le parasite sècrète un poison qui tue les cellules de la plante-hôte; puis son mycélium se répand en saprophyte dans les tissus qu'il a tués. C'est le cas de *Botrytis cinerea* (Brown, Wardlaw, Nordhausen) et d'*Ascospora Beyerinckii* (Vuillemin 1896). La guérison n'a pas lieu si des conditions atmosphériques décidément défavorables au champignons n'interviennent pas.

5) On constate un *minim* de troubles dans les cellules, tant si le parasite est peu virulent que si les cellules envahies se trouvent dans une période de forte activité et réagissent avec plus de force: elle démeurent turgescentes, leurs noyaux grossissent et se déplancent un peu vers les sucoirs; les chloroplastes se rapetissent, mais il ne se désorganisent point ou bien ils perdent lentement leur couleur, même par l'effet des changements de la valeur osmotique des sucs des cellules; ce n'est que dans des infections très anciennes que l'on trouve quelque cellule morte. Parasite et hôte démeurent ainsi, pendant un temps plus ou moins long, dans un état presque de symbiose (Peglion 1910) qui favorise l'espansion du premier dans le second, guidé quelquefois par des actions tropiques aussi (hydrotropisme; Curzi 1927), aboutissant à un danger pour l'hôte. C'est le cas de certaines formes de *Puccinia triticina*, vis-à-vis de variétés connues comme réceptives (Allen 1926) et c'est par un phénomène de même nature que l'infection due au mildiou se repand indéfiniment dans les feuilles nouvelles, tandis qu'elle demeure localisée dans les feuilles anciennes (Müller-Thurgau). Ainsi que le dit M. Zimmermann, les cellules du parasite et celles de l'hôte demeurent en vie après le contact et ce cas, comparé avec celui dont nous avons parlé au N. 3, a amené le pathologiste allemand à affirmer que, au fond, une résistance plus grande de l'hôte peut être ramenée à une plus grande susceptibilité. On peut dire que c'est une maladie chronique, à cours plus ou moins lent, mais dont l'issue est presque toujours léthale.

6) Ni le parasite, ni les cellules de la plante-hôte n'arrivent au commencement à se surmonter réciproquement; l'on a ainsi une longue

periode qui est de véritable symbiose, après quoi l'hôte surpasse et détruit le parasite par un procès qui ressemble à celui de la phagocytose (Dufrenoy 1929). C'est le cas des phénomènes connus, qui se rapportent aux épiphytes des Orchidées (Carbone et Arnaudi, Magrou etc.), des bactères des Légumineuses (Cappelletti), de *Synchytrium endobioticum* dans les variétés résistantes des pommes de terre (Cartwright) de quelques hyphomycètes qui pénètrent dans les tubercules radicaux des Cicadées (Zach), des mycorizes endotrophes de plusieurs essences (Callaud, Peyronel 1929), etc. Il s'agit d'une maladie chronique, légère, suivie de guérison.

7) La réaction de l'hôte amène le grossissement et la division des cellules, avec formation de tissu isolant et élimination du centre infecté. C'est le cas observé par Farneti pour le châtaignier japonais atteint de *Coryneum perniciosum*, par Blackmann pour les variétés résistantes du lin atteintes de *Fusarium lini*, etc. Des phénomènes semblables peuvent être produits par des bactéries aussi (Manzoni). C'est dans ce cas que rentrent tous les champignons qui sont cause des tâches des feuilles circonscrites et limitées par un halo de liège ou de cellules antocyaniques ou tanniques, tant si elles sont suivies que si elles ne le sont pas par le phénomène bien connu de la perforation du limbe (Küster, Kerling, etc.).

Il y a des cas où le parasite surpasse une première couche de péryderme qui lui a été opposée par l'hôte et alors une seconde couche se forme tout de suite, ainsi qu'il arrive pour les tubercules de pomme-de-terre envahis par *Spongospora subterranea* (Wildt).

On doit attribuer à cet ordre de phénomènes les formations de néoplasies, de galles, de tumeurs, etc., lorsqu'elles ont la tendance de circonscrire le parasite, même en lui créant des conditions favorables à son développement et à son entretien dans un organe déterminé, qui peut être éliminé ou détaché avec facilité (Levin) (1).

La chute de l'ogane ou de la partie infectée apporte une guérison qui permet à la plante son activité normale si des infections nouvelles n'interviennent point ou ne peuvent intervenir (2).

---

(1) On a proposé le problème (*Thomas, Levine*) si quelques unes de ces tumeurs des plantes — celle du *Bacterium tumefacien* en particulier — peuvent être comparées aux cancers malins des animaux.

Les points de ressemblance sont nombreux, surtout dans les altérations des cellules; mais nombreux sont aussi les points de contraste: parmi ces derniers y a le fait qu'il n'y a pas de transport d'action à distance (*Thomas*) et que si les tumeurs sont enlevées complètement elles ne se reproduisent plus. (Les tumeurs secondaires que quelques AA. ont décrites, ne se présentent, selon *Levine*, que lorsque l'infection primaire arrive sur des troncs ou des tiges très jeunes et encore en train de s'allonger, de manière que, en réalité elles ne sont que des tumeurs primaires transportées à distance).

(2) Si nous considérons aussi, parmi les phénomènes que nous sommes en train d'examiner, la chute des feuilles printanières des pêchers atteints par *Escoascus deformans*, nous remarquons qu'il s'agit d'un fait où de nouvelles conditions armosphériques étant

* * *

Le procès pathologique pourtant ne se développe pas toujours de la même manière et avec un même résultat dans chaque couple parasite-hôte.

Il y a, en effet, des champignons appelés demi-parasites (Morgenthaler) qui, tandis qu'en des conditions normales ils n'arrivent pas même à franchir la barrière défensive extérieure de l'hôte, lorsque celui-ci est est affaibli par d'autres causes, passent à l'état de parasites. Or, suivant ce que nous avons déjà dit, nous devons ranger parmi ces derniers les champignons qu'on appelle des blessures, les champignons des galles de Trotter, le *Penicillium* de Nordhausen et aussi les Erisyphées que j'ai étudiées en 1916. La *Dothyciza populea* frappe, parfois avec plus de force, les petites plantes plus faibles (Briosi).

Il y en a d'autres qui, comme les Ustilaginées, la *Monilia fructigena* (Montemartini, 1899), la *Sclerotinia pezizarum* (De Bary), la *Typhula variabilis* (Brizi) et plusieures autres, deviennent plus virulents par une période de vie saprophytique. Il y en a d'autres, au contraire (La Rue) qui, dans les mêmes conditions perdent de virulence, ce qui signifie que, même pour l'agent pathogène, son état de nutrition ([2]) a une grande importance, ainsi que l'a démontré M. Rosen pour *Fusarium vasinfectum:* peut-être, selon moi, pour le parasite aussi la production et la sécrétion de toxines est, parfois, un phénomène de réaction au stimulus qui lui vient de la part de l'hôte et qu'on pourrait même considérer, en quelque cas, comme production et sécrétion antitoxiques. L'action de changement d'hôte (Zimmermann) pourrait ainsi être expliquée et aussi, je crois, l'action du passage sur ce qu'on appelle les *specie-ponte*, de quelques formes biologiques de *Puccinia,* qui, après ce passage seulement, arrivent à infecter des graminées différentes de celles ou elles se sont spécifiées.

D'autre part, nous avons des plantes qui sont particulièrement sensibles aux changements des conditions extérieures, surtout de l'humidité et de la température. Quant à celle-ci on connaît les observations de M. Dickson à propos de la différente manière de comportement de *Gibberella Saubinetii,* vis-à-vis du blé et du maïs; le phytopathologiste

---

arrivées par suite du printemps qui avance, d'autres infections ne sonr plus possibles. La plante semble guérie, mais, comme on sait, si les feuilles tombées sont nombreuses et si la chute se repète plusieurs années de suite, il ne s'agit point de véritable guérison, car ce sont alors des symptômes d'épuisement qui surviennent.

([1]) Je dirais presque de nutrition et d'excitation, excitation qui peut être produite sur lui même par un hyperparasite; c'est très intéressant le cas décrit par *Sansone*, de *Fusarium solani* en symbiose avec des bactéries, et perdant sa virulence lorsqu'il est délivré de ces derniers.

américain a constaté que la réceptivité des deux espèces de hôtes ressent d'une manière différente des variations de température; c'est ainsi qu'on peut expliquer les violentes attaques du parasite dans les États Unis, quant au maïs sur la partie méridionale de sa culture et quant au blé sur la partie du Nord. On sait aussi que si l'on introduit les céréales provenant d'un climat chaud, dans une région à climat tempéré ou froid, ils perdent en vigueur végétative et en résistance aux rouilles; on observe (Costantin) des phénomènes semblables, même si l'on emporte des plantes des montagnes dans la plaine ou viceversa. Enfin, une remarque particulière pour ce qui se rapporte à l'action de la température, est due à l'étude de M. Tischler à propos de l'*Euphorbia cyparissias* atteinte de *Uromyces pisi*: on a démontré que le mycélium du parasite envahit toutes les parties de la plante et se repand, avec comportement intercellulaire, dans le méristhème apical, das les cellules duquel, pourtant, il ne fait pas entrer ses sucoirs qui pénètrent seulement dans les cellules plus basses, plus anciennes et plus riches en suc cellulaire. Et si, à un moment donné, la température éxtérieure s'élève jusqu'à atteindre l'*optimum* pour la végétation de l'hôte, le champignon meurt, tout en laissant celui-ci parfaitement guéri, si bien que son mérishème apical produit encore des feuilles normales.

Considerations generales et conclusions. — Par ces dernière observations de M. Tischler qui nous présentent un cas de véritable thermothérapie végétale ([1]), nous sommes amenés vers la conclusion souhaitée de cette relation.

Je dis exprès conclusion *souhaitée*, non pas conclusion spontanée ou scientifique, qui ne peut avoir lieu que par la démonstration, si toutefois il y en avait encore besoin, de l'unité fondamentale de la pathologie de tous les êtres vivants, unité que M. Vuillemin (1890) a déjà affirmé et M. Quanjer a confirmée plus récemment et qu'enfin MM. Car-

---

([15]) D'autres cas possibles de thermothérapie appliquée au traitement des maladies des plantes sont les suivants: M. *Murphy* a réussi à guérir des bulbes d'oignon infectées par *Peronospora Sheleidenii*, en les gardant pendant huit heures à la température de 40° C. M. *Butler* a observé que des tubercules de pomme de terre, infectés par le mildiou, donnent des plantes parfaitement saines s'ils sont cultivés dans la plaine du Gange, caractérisée par une température très haute. M. *Balls* a vu guérir, à la température de 38° C et plus, des plantes de coton infectées par *Rhizoctonia solani*. Et la méthode de désinfection des cariossides des céréales par l'eau chaude, peut aussi être considérée comme une application de thermothérapie. Je ne sais pas si l'on doit rappeler ici le manque de mildiou de la vigne dans la Vallée du Jourdain, bien qu'il y eût là des conditions d'humidité très favorables au parasite: M. Reichert explique ce phénomène non par la mort du parasite parce que la saison chaude avance, mais par la germination des oospores et des conydies, n'ayant pas lieu; ceci est en accord avec ce que M. *Istwanffi*, a vu, précisément à propos du mildiou de la vigne et ça arrive ainsi que pour d'autres champignons, en des cas déjà cités par M. *Rivera* (1930).

bone et Arnaudi ont démontrée avec une abondance de faits et une si grande originalité d'aperçus.

La conclusion souhaitée devrait être la réponse à la demande suivante: pourra-t-on atteindre, même pour les maladies des plantes, *une pharmaco-thérapie ou chimiothérapie*, c'est-à-dire une thérapie interne, adressée à la plante et qui n'ait pas pour but seulement la destruction des parasites?

Puisque M. Carbone et M. Arnaudi ont déjà fait entrevoir la possibilité, — pour le moment et peut-être pour longtemps encore seulement théorique — d'une sérothérapie, et puisque M. Rivera (1926) a déjà fait les premières tentatives de radiothérapie, après avoir rappelé ici quelques applications de thermothérapie, avant de donner une reponse à la demande qu'on a faite, je dois faire d'abord quelques considerations générales.

Si, avec MM. Istwanffi et Palinkas, on appelle période d'incubation de la maladie la période qui début par la pénétration du parasite dans les tissus de l'hôte et finit par l'apparition des premiers symptômes de la maladie (décoloration des tissus, jaunissement, nécrose, quelquefois même explosion des organes fructifères du parasite, symptômes qui, tous, marquent une victoire locale, du moins, de celui-ci) on peut presque considérer ce laps de temps comme une période de lutte au pair, dans laquelle aucune des parties n'a eu encore une victoire décisive. Or, comme la durée de cette lutte varie suivant les plantes-hôtes et les parasites (si bien qu'elle peut être, selon Stone, même de trois ans pour *Cronartium ribicola* sur les pins, tandis que, d'après Istwanffi, elle ne peut durer que peu de jour pour le mildiou) et comme, surtout, cette durée dépend aussi des conditions extérieures, soit qu'elles agissent sur la nutrition de l'hôte (Schaffnit et Volk, Gassner et Straib), ou sur l'accroissement et le développement du parasite (Balls, Butler, etc,), on doit admettre qu'il y a quelque manière d'intervenir dans la lutte.

On a déjà dit que chaque cause de changement du métabolisme de l'hôte ou du parasite se refléchit dans un avantage pour l'un ou pour l'autre. M. Sorauer, au Congrès International de Phytopathologie de Paris (1900) a déjà rappelé la possibilité d'administrer aux plantes des substances chimiques capables d'en augmenter la résistance vis-à-vis des maladies, et le Congrès, en suivant son conseil, et en considérant que les maladies en question ne dépendent point de l'état des parasites, mais de l'état de santé de la plante, a affirmé que nous devons nous efforcer, avant tout, de modifier la constitution de la plante même.

MM. Labrousse, Petri (1913), Schaffnit et Volk démontrèrent déjà

l'importance que la nourriture et, en général, les bonnes pratiques culturales peuvent avoir sur la réceptivité de quelques plantes vers certains parasites, et même sur la durée des périodes d'incubation respectives, de sorte que M. Ducomet a pu affirmer d'une façon presque générale, que le problème de la défense des plantes est un problème de nourriture. De nombreux travaux existent à propos de l'action que les fertilisants, chimiques surtout, exercent sur les maladies parasitaires des plantes; récemment M. Petri nous a donné un résumé de tous ces travaux (1930) et il suffira rappeler ici l'efficacité des fertilisants phosphatiques contre les rouilles (Montemartini 1909, Sibilia), celle des fertilisants potassiques contre d'autres maladies (Chupp, Hassenbrauk, Quamjer, Rast et d'autres encore), et enfin l'action efficace exercée dans le même sens par le nitrate de lithium (Spink) et par le magnésium (Schweizer).

A vrai dire, d'après les déclarations formelles de Laurent et de Kissel et, peut-être, même, d'après la pensée de plusieurs savants qui ont pris part au Congrès de Paris, les succès obtenus dans ce champ ont pu être et ont été attribués, pour la plupart, aux modifications déterminées dans l'épaisseur et dans la structure des tissus de l'épiderme et, surtout, dans la composition chimique des sucs cellulaires et, par là, sur la résistance passive, physique ou chimique. Mais ce n'est pas une raison pour exclure que tout ce qui agit d'une façon si évidente sur le métabolisme cellulaire, n'ait aussi une influence sur l'excitabilitè des protoplastes, excitabilité de laquelle dépend leur résistance active.

D'ailleurs on a fait d'autres expériences au cours desquelles les substances chimiques fournies aux plantes étaient d'une telle nature et en des proportions tellement modiques à faire supposer que leur action s'est bornée à exciter l'activité des cellules végétales. On doit se rappéler à ce propos: les expériences pratiquées par M. Norton contre *Cladosporium fulvum* et *Septoria lycopersici* de la tomate,à l'aide de solutions très délayées des sels les plus différents de barium, de calcium, de cuivre, de sodium, de mercure; les expériences de Massee toujours contre *Cladosporium fulvum* des tomates, moyennant l'administration de solutions à l'1/7000 de sulfate de cuivre; celles de Petri (1927) contre *Colletotrichum glocosporioides* des citrons, à l'aide de 60 grammes de sulfate de manganèse, administrés à chaque plante infectée.

Et il faut se rappeler encore que les toxines d'un parasite peuvent être néutralisées par les toxines d'un autre; c'est-à-dire que dans la lutte entre le parasite et son hôte, on peut venir à l'aide de ce dernier en utilisant, comme excitant, un autre parasite et peut-être (ce qu'on devrait essayer) l'extrait de ses cultures. Le cas décrit par Vuillemin (1894) est vraiment typique: il s'agit de l'*Anemone ranunculoides* qui était attaqué en même temps par *Aecidium punctatum* et par *Plasmopara pygmaca*;

lorsque les deux parasites attaquent séparément la plante, ils exercent, par le moyen de leurs toxines, une action de dépression qui empêche presque complètement la floraison; si, au contraire, ils se trouvent ensemble, et si leurs sucoirs ont la possibilité d'entrer dans une même cellule, ils s'influencent réciproquement, la cellule envahie resiste plus longtemps, et la plante donne une floraison presque normale ([1]).

On ne peut donc pas exclure la possibilité d'augmenter, d'une certaine façon, le pouvoir de réaction de l'hôte contre les parasites, si l'on tient compte des faits suivants: *a*) la résistance active est en fonction de la vitalité, et de l'irritabilité du protoplasma de la plante le protoplasma ayant une vie latente est plus réceptif que celui qui se trouve en pleine vitalité (Tubeuf), la periode d'incubation peût être raccourci par la narcose (Volk), et un protoplasma susceptible d'être excité (Vavilov) et de résister contre une infection peut être excité et peut résister contre plusieurs infections; *b*) les phénomènes qui dépendent précisément de l'irritabilité, tels, par exemple, les phénomènes d'héliotropisme, peuvent être excités moyennant des administrations appropriées de remèdes (Montemartini 1926, Gentili et Arduino, Bose). Heilbron a observé que à certaines actions excitantes le plasme, peuvent répondre des réactions non seulment de forme mais aussi d'ordre physico-chimique.

Le problème peut donc bien exiger des études et des expériences ultérieures. On pourra dire, peut-être, un mot, à la campagne, grâce aux fertilisants dîts oligodynamiques et dans le Laboratoire, grâce à tous les composés excitantes dont la pharmaco-thérapie humaine peut disposer à l'heure actuelle.

([1]) Dans un autre cas *Vasuveda* a constaté que si l'on injecte en des pommes mûres *Botrytis allii* en même temps que *Monilia fructigena*, le premier parasite entrave le développement du second. En d'autres cas, par contre, l'action des deux parasites peut devenir double: c'est ce qui arrive pour *Erysiphe graminis* et pour la rouille de l'orge que j'ai observé à Rome (1930) et aussi pour les *Tilletia* et les *Puccinia* (*Volk*), et aussi pour *Alternaria tenuis* et pour certaines bactéries dans les mycobactérioses de l'oléandre, décrites par *Perotti* et *Pontecorvo*. M. *Munerati* a vu que lorsqu'une plante de blé est en même temps infecté par *Ustilago tritici* et *Tilletia tritici*, ces deux parasites se divisent les épis et s'éliminent l'un l'autre.

BIBLIOGRAPHIE (*)

Allen R. F., « A cytological study of infection of *Baart* and *Kanred* wheats by *Puccinia graminis tritici* ». Journ. of agric. res., XXIII, 1923.

— « Cytological studies of infection of *Baart*, *Kanred* and *Mindum* wheats by *Puccinia graminis tritici* forms *III and XIX* ». Ibidem, XXVI, 1923.

— « A cytological study of *Puccinia triticina* physiologic form 11 on *little club* wheat ». Ibidem, XXXIII, 1926.

Alten v. A., « Kritische Bemerkungen und neue Ansichten über die Thyllen ». Bot. Ztg., 1903.

Angell H. R., *Walker J. C.* a. *Zink K. P.*, « The relation of protocatechnic acid to disease resistance in the onion ». Journ. of agric. res., XXXIX, 1929.

Appel O., « Zur Kenntniss des Wurdverschlusses bei den Kartoffeln ». Ber. d. d. bot. Ges., XXIV, 1906.

Arrhenius O., « Untersuchungen über den Zusammenhang von Gelbrostresistenz und der aktuellen und potentiellen Azidität des Zellsaftes und der Gewebe ». Ztschr. f. Pflanzenkrankh., XXXIV, 1924.

Auler H., « Ueber chemische und anaerobe Tumorbildung bei Pflanzen ». Ztschr. f. Krebsforsch., XXII, 1925.

Averna-Saccà R., « L'acidità dei succhi delle piante in rapporto alla resistenza contro gli attacchi dei parassiti ». Le Staz. Sperim. Agr. It., XLIII, Modena, 1910.

— « L'acidità dei succhi nelle viti americane in rapporto alla resistenza di esse alla fillossera ». Atti d. R. Ist. d'Incoragg. di Napoli, ser. VI, 8, 1910.

Balls W. L., « Temperature and growth ». Ann. of Bot., XXII, 1908.

Bavendamm W., « Ueber das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei holzzerstörenden Pilzen ». Ztschr. f. Pflanzenkrankh., XXXVIII, 1928.

Beauverie J., « Sur les modes de dégénérescence des chloroplastes, particulièrement dans le parasitisme ». Compt. Rend. d. S. d. l'Ac. d. Sc. de Paris, 183, 1926.

Benigni E., « Note sull'*Ustilago maydis* (D. C.) Corda nella valle Padana ». Riv. di Pat. Veg., XVII, 1927.

(*) J'ai tâché de reunir le quantitatif le plus grand de faits et d'observations, dans le but de les ranger et de les classer suivant le point de vue qu'on m'avait proposé au Congrès. Je suis sûr, pourtant, de ne les avoir pas reunis tous, car, en examinant la litérature botanique qui est énormement riche, j'en rencontre chaque jours des nouveaux que je n'avais pas remarqués avant, parce qu'ils avaient été étudiés aux points de vue tout à fait différents du mien; plusieurs observations que moi même j'ai fait et j'ai mentionnées plus haut, retrouvent seulement à présent l'explication et la signification qu'elles ont dans le problème qu'on vient d'examiner dans cet étude.

Nombre d'autres faits, auxquels je n'ai pas donné ici une importance particulière, sont rappelés dans les monographies de M. *Zimmermann*, dans les volumes de M. *Rivera*, de M. *Carbone* et M. *Arnaudi*, dans les traités de M. *Kuster* et de M. *Fischer* et M. *Gäumann*: c'est à ces travaux que je rappelle, d'une façon spéciale, l'attention des savants; je les ai longuement consultés et il est opportun que tous ceux qui s'occupent de l'argument les consultent eux-aussi.

De l'ensemble de cette riche Bibliographie résulterait que les rapprochements qu'on à fait entre la Pathologie végétale et la Pathologie animale ne sont pas fortuits et ne sont non plus des curiosités scientifiques, mais ils derivent de la nature même des phenomènes. Il serait donc necessaire de parler vraiement comme a proposé M. *Quanjer* d'une seule Pathologie générale de tous les organismes cellulaires.

Blackmann V. H., « Discussion on some similarities and dissimilarities between plant and animal diseases, with special reference to immunity and virus diseases ». Brit. med. Journ., L, 1922.

Blaringhem L., « Notes sur la biologie des rouilles et des charbons. - II: La rouille noire (*Puccinia graminis* Pers.) au printemps de 1923 à Bellevue, sur les blès résistants et sur leurs hybrides ». Rev. d. Path. Vég. et d'Entomol. Agric. », X, 1923.

Blumenthal F. u. *Meyer P.*, « Ueber durch Acidum lacticum erzeugte Tumoren auf Mohrrübenscheiben ». Ztschr. f. Krebsforsch., XXI, 1924.

Bose J. Ch., « La physiologie de la photosynthèse ». Trad. par *L. Dufrénoy*. Paris 1927.

Bottini T. L., « La peronospora viticola. Contributo allo studio delle cause interne che inducono una diversa resistenza dei vitigni alla peronospora ». Agricoltura Italiana, Piacenza 1909.

Boyle C., « Studies in the physiology of parasitism. - VI: Infection by *Sclerotinia Libertiana* ». Ann. of Bot., XXXV, 1921.

Briosi G., « Rassegne crittogamiche del R. Laboratorio Crittogamico di Pavia ». Atti d. R. Ist. Bot. di Pavia, S. II, 1-16, 1884-1919.

Brizi U., « Ricerche su alcune singolari neoplasie del pioppo e sul bacterio che le produce ». Atti d. Congr. d. Natur. It., Milano 1906.

— « La *Typhula variabilis* e il male dello sclerozio della barbabietola da zucchero ». Rend. d. R. Acc. dei Lincei, XV, 1906.

Brooks F. T., « Notes on parasitism of *Botrytis* ». Proc. Cambridge phylos. Soc., XIV, 1907.

— « Observations on the biology of *Botrytis cinerea* ». Ann. of Bot., XXII, 1908.

Brown W., « Studies in the physiology of parasitism. - I: The action of *Botrytis cinerea* ». Ibidem, XXIX, 1915.

Brüllowa L. P., « Ueber den Selbstschutz der Pflanzenzelle gegen Pilzinfektion ». Mikrobiol. Ges. zu St. Petersbourg, 1907.

Buchheim A., « Einfluss von *Ustilago panici-miliacei* auf Entwicklung und Wachstum der Wirtspflanze ». Ztschr. f. Bot., XXIII, 1931.

Büsgen M., « Ueber einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze ». Bot. Ztg., 1893.

— « Biologische Studien mit *Botrytis cinerea* ». Flora, N. F., XI, 1928.

Butler E. F., « Immunity and diseases in plants ». Agric. Journ. of India, 1918.

— « Condizioni meteoriche e malattie delle piante ». Rassegna Int. d. Agronomia, N. S., III, 1925.

Campanile G., « Ricerche sopra le condizioni di attacco e di sviluppo di *Helminthosporium Allii* su aglio ». Le Staz. Sper. Agr. It., LVII, Modena 1924.

Cappelletti C., « Reazioni immunitarie nei tubercoli radicali delle Leguminose ». Annali di Botanica, XVI, 1924.

— « Sterilità di origine micotica nella *Ruta patavina* L. ». Ibidem, XVIII, 1929.

Cappelletti C., « Sull'azione dei prodotti del ricambio di micelii micorizogeni sulle piante ospiti ». Ibidem ,XIX, 1930.

Carbone D. e *Arnaudi C.*, « L'immunità nelle piante ». Monografie dell'Istituto Sieroterapico Milanese, 1930. — In questo lavoro, d'indole generale, insieme ai risultati di osservazioni nuove sono anche richiamati quelli già resi noti dagli Autori in molte altre note precedenti, sullo stesso argomento.

Carturight K., « On the nature of the resistance of the potato wart disease ». Ann. of Bot., XL, 1926.

Catalano G., « La concentrazione degli H-ioni nella patologia vegetale ». Boll. d. studii e inf. d. R. Fiard. Colon. di Palermo, XI, 1928.

Cavara F., « Ipertrofie ed anomalie nucleari in seguito a parassitismo vegetale ». Pavia 1896.

— « Intorno agli effetti dell'azione irritante delle cocciniglie sui tessuti assimilatori ». Rend. d. R. Acc. d. Sc. Fis. e Nat. di Napoli, 1908.

Chupp Ch., « The effects of potash and phosphorus on tip burn and milden of cabbage ». Phytopathology, XX, 1930.

Clayton E. E., « The relation of temperature to the *Fusarium*-wilt of the tomato ». Amer. Journ. of Bot., X, 1923.

— « The relation of soil moisture to the *Fusarium*-wilt of the tomato ». Ibid.

Colla S., « Osservazioni sulla presenza di fermenti ossidanti nei tessuti di alcune fanerogame parassite ». Annali di Botanica, XVIII, 1928.

Comes O., « Crittogamia agraria ». Napoli 1891.

— « La profilassi nella patologia vegetale ». Rend. d. R. Ist. d'Incoragg. di Napoli, 1916.

Conant G. H., « Histological studies of resistance in tobacco to *Thielavia basicola* ». Amer. Journ. of Bot., XIV, 1927.

Cook M. T. a. *Taubenhaus J. J.*, « The relation of parasitic fungi and the contents of the cells of the host plant. - I: The toxicity of tannins ». Delaware Agric. Exper. Station, 1911.

— — « II: The toxicity of vegetable acids and the oxidizing enzymes ». Ibidem, 1912.

— a. *Wilson G. W.*, « The influence of the tannin content of host plant on *Endothia parasitica* and related species ». Bot. Gaz., LX, 1915.

Cornu M., « Prolongation de l'activité des cellules chlorophylliennes sous l'influence d'un parasite ». Compt. Rend. d. S. d. l'Ac. d. Sc. de Paris, 93, 1881.

Costantin J., « Influence de l'altitude en pathologie végétale ». Rev. d. Bot. appl. et d'Agric. col., X, Paris 1930.

Cunningham H. S., « A study of the histologic changes induced in leaves by certain leafspotting fungi ». Phytopathology, XVIII, 1928.

Curtis K. M., « The morphological aspect of resistance to brownrot in stone fruit ». Ann. of Bot., XLII, 1928.

Curzi M., « Il parassitismo del *Verticillium tracheiphilum* Crzi e la diffusione della *tracheoverticilliosi* del peperone in Italia ». Riv. di Patol. Veget., XV, 1925.

— « L'eziologia della cancrena pedale del *Capsicum annuum* L. ». Ibidem, XVII, 1927.

— « Intorno alle tracheomicosi e a nuovi gravi casi di verticilliosi ». Boll. d. R. Staz. d. Patol. Veg. di Roma, X, 1930.

De Bary A., « Ueber einige Sclerotinien und Sclerotienkrankheiten ». Bot. Ztg., 1886.

Degli Atti M., « L'acidità dei succhi in alcuni vitigni e la loro resistenza alle malattie ». Ann. d. R. Scuola Sup. d'Agric. di Portici, XIV, 1916.

— « Le ossidasi nell'ingentilimento delle piante coltivate ». Ibidem.

Dei P. K., « Studies in the physiology of parasitism. - V: Infektion by *Colletotrichum Lindemuthianum* ». Ann. of Bot., XXXIII, 1919.

Dickson J. G., « Influence of soil temperature and moisture on the development of the seedling-blight of wheat and corn caused by *Gibberella Saubinetii* ». Journ. of Agric. res., XXIII, 1923.

Doby G., « Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. - I: Die Oxydasen der ruhenden Knollen ». Ztschr. f. Pflanzenkrankheit., XXI, 1911.

— « III: Chemische Beschaffenheit kranker und gesunder Pflanzentheile ». Ibidem, XXII, 1912.

— « IV: Einige Bemerkungen über die Physiologie kranker Knollen ». Ibidem.

— u. *Bondár J.*, « V: Die Amylase blattrollkranker Knollen ». Ibidem, XXV, 1915.

Draghetti A., « I caratteri osmotici quale causa della resistenza dei frumenti alla ruggine ». Riv. di Patol. Veg., XVIII, 1928.

Ducomet V., « Observations sur le développement du Rhizoctone de la luzerne ». Rev. d. Path. Vég. et d'Entom. Agric., IX, 1922.

Duffas F., « La structure anatomique de la feuille de blé et l'échaudage ». Bull. d. la Soc. d'Hist. Nat. de Toulouse, LVI, 1927.

— « L'anatomie de la feuille du blé et ses rapports avec la résistance aux rouilles ». Ibidem.

Dufrénoy F., « Étude cytologique des rapports entre parasite et cellule végétale ». Ann. de l'Inst. Pasteur, 1929.

— « Réaction de cellules à la pénétration de sucoirs ». Schaffnit's Phytopath. Ztschr., I, 1929.

— « Études cytologiques relatives aux maladies à virus ». Ibidem.

— « Maladies à virus du tabac ». Ibidem, II, 1930.

Eftimion P., « Sur l'*Exoascus deformans* (Berk.) Fuck ». Compt. Rend. d. S. d. l'Ac. de Sc. de Paris, 181, 1925.

Faes H. et *Staehelin M.*, « La coïtre de la vigne (*Coniothyrium diplodiella*) ou maladie de la grêle ». Lausanne 1922.

Farneti R., « L'avvizzimento dei cocomeri in Italia ». Riv. di Patol. Veg., II, 1907.

—, *Lissone E. G.* e *Montemartini L.*, « La resistenza del castagno giapponese alla malattia dell'inchiostro ». Ibidem, VI, 1913.

Ferraris T., « Trattato di patologia e terapia vegetale », 3ª ediz. Milano 1926.

Fischer E. u. *Gäumann E.*, « Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze ». Jena 1929.

Flor H. H., « Relation of environmental factors to growth and pathogenicity of *Pythium* isolated from roots of sugar cane ». Phytopathology, XX, 1930.

Friedrich R., « Ueber die Stoffwechselvorgänge infolge der Verrletzung der Pflanzen ». Centralbl. f. Bakteriol., II Abth., XXI, 1908.

Gallaud J., « Études sur les mycorhizes endotrophes ». Rev. gén. de Bot., XVII, 1905.

Galloway B. T., « A rust and leaf casting of pine leaves ». Bot. Gaz., XXII, 1896.

Gassner G. u. *Straib W.*, « Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Weizensorten gegen *Puccinia glumarum* ». Schaffnit's Phytopath. Ztschr., I, 1929.

— — « Untersuchungen über die Abhängigkeit der Infektionsverhalten der Getreiderostpilze vom Kohlensäuregehalt der Luft ». Ibidem.

Gaumann E., « Das Problem der Immunität in Pflanzenreich ». Sch. Naturf. Ges. Zürich, LXXIII, 1928.

Gentili R. e *Arduino R. J.*, « Contributo allo studio dell'eliotropismo nelle piante. L'azione delle diverse sostanze eccitanti sopra di esso ». Natura, XVIII, Milano 1927.

Gilchrist G. G., « The nature of resistance to footrot caused by *Ascochyta* sp. and some other fungi ». Phytopathology, XVII, 1926.

Gioelli F., « Alcune determinazioni refrattometriche in succhi di piante ammalate ». Atti R. Istit. Bot. di Pavia, S. III, 3, 1926.

Graebner P., « Die nichtparasitären Krankheiten ». Sorauer's Hand d. Pflanzenkrankh., V Aufl., I, 1924.

Guttenberg v. H., « Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen » Leipzig 1905.

— « Cytologische Studien an *Synchytrium*-Gallen ». Pringsheim's Jahrb. f. w. Bot., XLIV, 1909.

Hanna W. F., « Studies in the physiology and cytology of *Ustilago zeae* and *Sarasporium reilianum* ». Phytopathology, XIX, 1929.

Hart H., « Factors affecting the development of flax rust, *Melampsora lini* (Pers.) Lev. ». Phytopathology, XVI, 1926.
— « Relation of stomata behavior to stem-rust resistance of wheat ». Journ. of agric. res., XXXIX, 1929.
Harvey R. B., « The relative transpirationsrate an infection spots on leaves ». Ibidem.
Hassenbrauk K., « Ueber die Abhängigkeit der Rostinfektion von der Mineralsalzenährung der Getreidepflanzen ». Die Ernährung d. Pflanze, XXVI, 1930.
Heilbronn A., « Zustand des Plasmas und Reizbarkeit. Ein Beitrag zur Biologie der lebenden Substanz ». Pringsheim's Jahrb. f. w. Bot., LIV, 1914.
Hemmi T. e *Matsuura I.*, « Experiments relating to the toxic action bu causal fungus of helmintohosporiose of rice ». Proc. Imp. Ak. Tokyo, III, 1928.
Hendlund T., « Relazione tra alcune malattie dei vegetali e le condizioni climateriche dell'estate 1906 ». Tidschr. f. Landt., XXVII, Lund 1906.
Higgins B. B., « Physiology and parasitism of *Selerotium Rolfsii* Sacc. ». Phytopathology, XVII, 1927.
Hurd-Carrer A. M., « The course of acidity changes during the growth period of wheat with special reference to stemrust resistance ». Journ. of agric. res., XXVII, 1924.
— « Acidity and varietal resistance of wheat to *Tilletia tritici* ». Amer. Journ. of Bot., XII, 1925.
Hursch C. R., « Sur la toxicité des milieux de cultures des champignons phytopathogènes vis-à-vis des plantes ». Rev. d. path. vég. et d'entom. agric., XII, 1925.
Istwanffi Gy et *Pàlinkàs Gy*, « Études sur le mildiou de la vigne ». Ann. de l'Institut centr. ampélographique r. hongrois, IV, 1913.
Jancke O., « Die Anfälligkeit verschiedener Pflanzen gegenüber thierischen und pflanzlichen Schädlingen und die Wasserstoffionenkonzentration ihres Zellsaftes ». Schaffnit's Phytopath. Ztschr., II, 1930.
Kerling L. C. P., « De anatomische bouw van bladvlekken ». Med. Landb. te Wageningen, XXXII, 1928.
Kirchner O., « Untersuchungen über die Empfänglichkeit unserer Getreide für Brand. und Rostkrankheiten ». Fühling's Landw. Ztg., LXV, 1916.
Kissel J., « Der Bau des Gramineenhalmes unter dem Einfluss verschiedener Düngung ». Inaug. Diss., Giessen, 1906.
Kluchnicova E. S., « Le mycelium de l'*Ustilago tritici:* son extension dans le tissu du froment, et les altérations qu'il provoque dans la structure de la plante nourricière ». Morbi plantarum, XVII, 1928.
Kohnstamm Ph., « Amylolytische, glycosidspaltende, proteolytische und celluloselösende Fermente in holzbewohnenden Pilze ». Beitr. z. Bot. Centralblatt, X, 1902.
Kohstoff D., « Acquired immunity in plants ». Genetic, XIV, 1929.
Krassnosselsky T., « Bildung der Atmungsenzyme in verletzten Pflanzen ». Ber. d. d. bot. Ges., XXIII, 1905.
— « Bildung der Atmungsenzyme in verletzten Zwiebeln von *Allium cepa* ». Ibidem, XXIV, 1906.
Krehl L., « Fisiologia patologica ». Trad. it. di *R. Lüttichau* e *P. Albertoni*. Milano 1923.
Kurosawa E., « On the causal fungus of the *Bakanae*-disease of rice plants, and the experiments of its isolation and infektion ». Nat. Hist. Soc. Formosa, XVIII, 1928.
Kurssanow A. L., « The influence of *Ustilago tritici* on the physiological functions of wheat ». Rev. gén. d. Bot., XL, 1928.
Küster E., « Pathologische Pflanzenanatomie ». III Aufl., Jena 1925.
— « Regenerationserscheinungen an Bakteriengalle ». Flora, N. F., XXII, 1926.

Labrousse F., « Influence de la fumure sur la résistance d'une variété de laitue à la maladie du collet causée par le *Sclerotinin Libertiana* ». Rev. d. path. vég. et d'entom. agric., XVII, 1930.
— et *Sarejanni J.*, « Recherches physiologiques sur quelques champignons parasites ». Schaffnit's Phytopath. Ztschr., II, 1930.
La Rue C. D., « Loss of virulence in fungi ». Science, N. S., 1925.
Laurent E., « Recherches expérimentales sur les maladies des plantes ». Ann. de l'Inst. Pasteur, 1898.
Lean Mc. F. T., « A study of the structure of the stomata of two species of Citrus in relation of Citrus canker ». Bull. of the Torr. Bot. Club., XLVIII, 1921.
Letcher H. a. *Willamann J. J.*, « Biochemistry of plant diseases. - VIII: Alkoholic fermentation of *Fusarium lini* ». Phytopathology, XVI, 1926.
Levin L. a. *Levine M.*, « The action of boried tubes of radium emanation on neoplasias in plants ». Journ. Cancer Res., VII, 1923.
— — « The rôle of neoplasia in parasitic diseases of plant ». Ibidem.
Levine M., « A comparative cytological study of the neoplasms of animals and plants ». Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., XXI, 1924.
— « The so-called strands and secondary tumors in the crowngall disease ». Phytopathology, XV, 1925.
Lippmaa Th., « Beobachtungen über durch Pilzinfektion verursachte Anthocyanbildung ». Acta Inst. et Hort. Bot. Univ. Tartuensis, I, 1928.
Lopriore G., « L'acidità dei succhi vegetali come mezzo di difesa contro i parassiti ». Ann. d. R. Scuola Sup. d'Agric. di Portici, XII, 1914).
Lutz I., « Sur la spécificité de quelques Hyménomycètes epiphytes vis-à-vis de leurs rapports ». Bull. trim. d. la Soc. Mycol. de France, XLI, 1925, e XLV, 1930. Veggasi anche in Compt. rend. d. s. d. l'Ac. de Paris, 1928.
Magrou J., « L'immunité humorale chez les plantes ». Rev. d. path. vég. et d'entom. agric., XI, 1924.
— « Sur l'anatomie du cancer des plantes ou crowngall ». Compt. Rend. d. S. de l'Ac. de Sc. de Paris, 183, 1926.
Maire R., « La biologie des Urédinales ». Lotsy's Progr. rei bot., IV, 1913.
Mallmann W. L. a. *Hemstreet C.*, « Isolation of on inhibitory substance from plants ». Journ. of agric. res., XXVIII, 1924.
Manzoni L., « Una causa bacterica dell'incappucciamento del trifoglio pratense ». Le Staz. Sper. Agr. It., LV, Modena 1922.
Maresquelle H. J., « Études sur le parasitisme des Urédinées ». Ann. d. Sc. Nat., Bot., S. X, 12, 1930.
Massee G., « On a method of a rendering cucumber and tomato plants immune against fungus parasites ». Journ. Roy. Hortic. Soc., XXVIII, 1903.
— « On the origin of parasitism in fungi ». Phylos. Trans. Roy. Soc. of London, 197, 1904.
Melander L. W. a. *Craigie J. H.*, « Nature of resistance of *Berberis* spp. to *Puccinia graminis* ». Phytopathology, XVII, 1927.
Mencacci A., « Alcune ricerche sulle ruggini del frumento in Agro romano ». Boll. d. R. Staz. di Pat. veg. di Roma, 1929.
Mercuri G., « Un'esperienza sopra l'azione dei prodotti del ricambio e dell'estratto del micelio di *Rosellinia necatrix* sopra le radici di viti ». Boll. d. R. Staz. di Patol. Veg. di Roma, 1928.
Miyoshi M., « Ueber Chemotropismus der Pilze ». Bot. Ztg., LII, 1894.
— « Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden ». Pringsheim's Jahrb. f. w. Bot., XXVIII, 1895.
Molliard M., « Hypertrophie pathologique des cellules végétales ». Rev. gén. de Bot., IX, 1897.
— « Notes de pathologie végétale ». Ibidem, X, 1898.
— « Sur quelques caractères histologiques des cécidies produits par l'*Heterodera radicicola* Greef ». Ibidem, XII, 1900.

Montemartini L., « Pistillodia dell'antera in *Gentiana campestris* L. ». Malpighia, XIII, 1899.
— « La *Monilia fructigena* Pers. e la malattia dei frutti da essa prodotta ». Riv. di Patol. Veg., 1899.
— « *Uredo aurantiaca* n. sp. Nuova uredinea parassita delle Orchidee ». Atti d. R. Ist. Bot. di Pavia, S. II, 8, 1902.
— « La selezione come mezzo di lotta in patologia vegetale ». Atti d. VII Congresso Internaz. di Agricoltura, Roma 1903.
— « Note di fisiopatologia vegetale ». Atti d. R. Ist. Bot. di Pavia, S. II, 9. 1904.
— « Fioritura autunnale della *Syringa vulgaris* dovuta a un fungo parassita ». Riv. di Patol. Veg., I, 1906.
— « La ruggine dei cereali in rapporto colle concimazioni ». Ibidem, IV, 1909.
— « L'azione eccitante del solfato di manganese e del solfato di rame sopra le piante ». Le Staz. Sper. Agr. It., XLIV, Modena 1911.
— « L'azione dell'*Aecidium clematidis* D. C. sopra le foglie della pianta ospite ». Riv. di Patol. Veg., VIII, 1916.
— « Intorno ad alcuni casi di simbiosi autunnale, locale e temporanea ». Atti d. R. Ist. Bot. di Pavia, S. II, 17, 1916.
— « Sopra la resistenza delle quercie all'oidio ». Riv. di Patol. Veg., IX, 1917.
— « Su l'azione specifica di alcuni eccitanti sopra le foglie ». Atti d. R. Ist. Bot. di Pavia, S. II, 17, 1922.
— « Contributo allo studio dell'azione dell'alcool sopra le piante ». Boll. d. Soc. di Biol. Sper., I, 1926.
— « A proposito di parassitismo facoltativo di alcuni funghi saprofiti ». Riv. di Patol. Veg., XVII, 1927.
— « Brevi note sopra la cicatrizzazione nei tuberi delle patate ». Annali di Botanica, XVIII, 1927.
— « Materiali per uno studio del sistema assimilatore delle piante ». Ibidem, 1928.
— « Note di fitopatologia. - 3: Mal bianco del carrubo ». Riv. di Patol. Veg., XVIII, 1928.
— « 6: Osservazioni e considerazioni sopra l'*Erysiphe graminis* D. C. ». Ibidem, XX, 1930.
— « Est-ce que l'on va vers une immunisation des chênes contre l'oïdium ? ». Boll. d. Sez. It. d. Soc. Int. di Microbiologia, 1930.
Morgenthaler O., « Die Pilze als Erreger von Pflanzenkrankheiten ». Jena 1913.
Morozov, « Sur l'influence des Ustilaginées sur les plantes ». Mitth. d. Station f. Pflanzensch. in Stavropol., 1928.
Müller-Thurgau H., « Die Thätigkeit pilzkranker Blätter ». Schweitz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau, 1895.
— « Infektion der Weinrebe durch *Plasmopara viticola* ». Centralbl. f. Bakteriol., II Abth., XXIX, 1911.
Munerati O., « Compétition entre *Ustilago tritici* et *Tilletia tritici* chez une meme plante de blé ». Compt. rend. d. s. d. l'Ac. d. Sc. d. Paris, CXCII, 1931.
Munkelt W., « Versuche zur Stoffwechselpathologie der Kulturpflanzen ». Angew. Bot., IX, 1927.
Murphy P. A. a. *Mc. Ray R.*, « Some new facts concerning onion mildew ». Journ. Deptm. of Land a. Agric., XXVI, Dublin, 1926.
Nawaschin P., « Beobachtungen über den feineren Bau und Umwandlungen von *Plasmodiophora brassicae* Wor. im Laufe ihres intrazellularen Lebens ». Flora, 136, 1899.
Newton R., Lehmann J. W. a. *Clarke A. E.*, « Studies on the nature of rust resistance in wheat. - I: General introduction; II: Physicochemical properties of hostcellcontents; III: Culture and injection experiment to demonstrate inhibiting or accessory substances ». Canadian Journ. of res., 1929.

Newton R., Lehmann J. W. a. *Anderson S. A.*, « IV: Phenolic compounds of the wheat plants ». Ibidem.
Nicolas G., « Sur la réspiration des plantes parasitées par des champignons ». Compt. rend. d. S. de l'Ac. d. Sc. de Paris, 170, 1920.
— « Notes de tératologie végétale et remarques sur les virescences ». Bull. de la Soc. d'Hist. Nat. de l'Afrique du Nord, III, Algeri 1922.
— « Sur la transpiration des plantes parasitées par les champignons ». Rev. gén. de Bot., XLII, 1930.
Nobécourt P., « Action de quelques alcaloïdes sur le *Botrytis cinerea* ». Compt. Rend. de S. de l'Ac. d. Sc. de Paris, 172, 1921.
— « Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux ». Rev. gén. des Sciences, 1927.
Nordhausen M., « Beiträge zur Biologie parasitärer Pilze ». Pringsheim's Jahrb. f. w. Bot., XXXIII, 1899.
Norton J. S., « Action interne des substances chimiques sur la résistance des tomates aux maladie de la feuille ». Le progrès agric. et vit., Montpellier 1916.
Pantanelli E., « Osservazioni su la ricettività della quercia per l'oidio ». Boll. d. R. Ort. Bot. di Napoli, IV, 1914.
— « Sui rapporti tra nutrizione e recettività per la ruggine ». Riv. di Patol. Veg., XI, 1921.
Paris G., « L'acidità dei succhi vegetali come mezzo di difesa contro i parassiti ». Riv. di Biologia, I, 1919.
Passalacqua T., « Due malattie di piante coltivate dovute a bacterii ». Lav. d. R. Ist. Bot. di Palermo, I, 1930.
Pavarino L., « Influenza della *Plasmopara viticola* sull'assorbimento delle sostanze minerali nelle foglie ». Atti d. R. Ist. Bot. di Pavia, S. II, 11, 1905.
— « La respirazione patologica delle foglie di vite attaccate dalla peronospora ». Ibidem.
— « Intorno alla produzione di calore nelle piante ammalate ». Ibidem, 13, 1909.
Peglion V., « Studio anatomico di alcune ipertrofie indotte dal *Cystopus candidus* in alcuni organi di *Raphanus raphanistrum* ». Riv. di Patol. Veg., 1893.
— « Ueber die Biologie der *Sclerospora*, eines Parasiten der Gramineen ». Centalbl. f. Bakteriol., II Abth., XXVIII, 1910.
Perotti R. e *Pontecorvo G.*, « Ulteriori ricerche sulla micobatteriosi fiorale e dei frutti dell'oleandro ». Boll. d. R. Ist. Sup. Agr. di Pisa, V 1929.
Petri L., « Un'esperienza sopra il valore del chemotropismo nell'azione parassitaria dei funghi ». Rend. d. R. Acc. d. Lincei, XVIII, 1909.
— « Osservazioni sopra il rapporto fra la composizione chimica delle radici della vite e il grado di resistenza alla fillossera ». Ibidem, XIX, 1910.
— « Studii sulle malattie dell'olivo. - III: Alcune ricerche sulla biologia del *Cycloconium olaginum* Cast. ». Roma 1913.
— « Effetti del solfato di manganese sulle piante di limone attaccate dal *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. ». Boll. d. R. Staz. di Patol. Veg. di Roma, VII, 1927.
— « Esperienze sulla formazione del sughero delle ferite ». Ibidem, IX, 1929.
— « La nutrizione minerale delle piante in rapporto alla predisposizione o alla resistenza di queste a cause patogene ». Ibidem, X, 1930.
Petri L., « I risultati di alcune ricerche sperimentali sopra il mal secco degli agrumi ». Ibidem.
Peyronel B., « I germi atmosferici dei funghi con micelio ». Padova 1914.
— « Le micorize delle essenze forestali ». L'Alpe, Firenze 1929.
Pfeffer W., « Physiologie végétale ». Trad. par J. Friedel, Paris 1912.
Picado C., « Sur l'action à distance des champignons phytopathogènes ». Congr. d. path. vég. de Strasburg, 1923.

Pool V. W. a. *Kay Mc. M. B.*, « Relation of stomatal movement to infection by *Cercospora beticola* ». Journ. of agric. res., V, 1928.

Quanjer M., « Un nouveau chapitre de la pathologie végétale reliant cette science à la pathologie animale ». Rev. d. Path. vég. et d'entom. agric., X, 1923.

— « Se invloed van Kaligebrok op de vatbaarheid van bloemkool vor *Peronospora parasitica* ». Tijdschr. ov Pflanzenz, XXXIV, 1928.

Rast L. E., « Control of cotton wilt by the use of potash fertilizers ». Journ. of the Amer. Soc. of Agron., XIV, 1922.

Ravenna C. e *Zamorani M.*, « Sulle variazioni nel contenuto in acido cianidrico causate da lesioni traumatiche nel *Soryhum vulgare* ». Le Staz. Sper. Agr. It., XLII, Modena 1909.

Reichert J., « Downy mildew of the vine in Palestina ». Agric. Exper. Station Tell-Aviv, Palestina 1927.

Reynolds E. S., « Relations of parasitic fungi to their host plants. - I: Studies of parasitizez leaf tissue ». Bot. Gaz., LIII, 1912.

— « Relation of parasitic fungi to their host plants ». Ibidem, 1917.

Riker A. J., « Some morphological responses of the host tissues to the crown-gall organism ». Journ. of agric. res., XXVI, 1924.

— « Cytological studies of crowngall tissues ». Amer. Journ. of Bot., XIV, 1927.

Ritter G., « Ueber Traumatotaxis und chemotaxis des Zellkerns ». Ztschr. f. Bot., III, 1911.

Rivera V., « Primo contributo allo studio della recettività della quercia per l'oidio ». Rend. d. R. Acc. d. Lincei, XXII, 1913.

— « Epidemie crittogamiche e fattori d'ambiente che le determinano ». Rass. Int. d'Agronomia, II, Roma 1924.

— « Saggi di radioterapia vegetale ». Boll. d. R. Staz. di Patol. Veg. di Roma, VI, 1926.

— « Osservazioni sopra la recettività di alcune varietà di frumento per la *Septoria graminum* Desm. ». Ibidem, VIII, 1928.

— « Cicatrizzazioni sperimentali di fusto di *Ricinus comcumis* determinate da *Pseudomonas fluorescens* (Flügge) Migula ». Rend. d. R. Acc. d. Lincei, 1929.

— « Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1928 nel Laboratorio ed Osservatorio di Patologia vegetale presso il R. Istituto Sup. Agrario di Perugia ». Boll. d. R. Staz. di Pat. veg. di Roma, 1929.

— « Malattie delle piante ». Roma 1930.

Rosen H. R., « Efforts to determine the means by wich to cotton-wiltfungus, *Fusarium vasinfectum*, induces wilt ». Journ. of agric. res., XXXIII, 1926.

Rowazek K., « Ueber den Erreger der Kohlhernie *Plasmodiophora Brassicae* Wor. und die Einschlüsse in den Carcinomzellen ». Arb. a. d. K. Gesundheitsamte, XXII, 1905.

Sansone F., « Il *Fusarium solani* (Mont.) Sacc. in simbiosi mutualistica con bacterii nella determinazione di cancrena umida dei tuberi di patata ». Boll. d. R. St. di Pat. Veg. di Roma, 1929.

Scaramella P., « L'*alternariosi* o marciume nero delle carote ». Boll. d. R. St. di Pat. Veg. di Roma, 1929.

Schaffnit E. u. *Volk A.*, « Ueber den Einfluss der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten, I ». Forsch. a. d. Geb. d. Pflanzenkrankh., 1927.

— — « II Theil ». Schaffnit's Phytopath. Ztschr., I, 1929.

Schürhoff P., « Das Verhalten des Kernes im Wundgewebe ». Brit. z. Bot. Centralbl., XIX, 1906.

Schweizer Gg., « Ein Beitrag zur Aetiologie und Therapie der Blattrollkrankheit bei der Kartoffelpflanze ». Schaffnitt's Phytopath. Ztschr., II, 1930.

Scurti F. e *Sica V.*, « Sulla resistenza delle diverse varietà di frumento di fronte alle ruggini ». Ann. d. Staz. Chim. Agr. Sper. di Roma, S. II, 7, 1914.

Seto F., « The reaction of rice seedlings to infektion of the causal fungus of the *Bakanae* disease and to filtrate of its cultures ». Mem. of the College of Agric. Kyoto Imp. Univ., 1928.

Shevchanko B., « Influence of *Cercospora beticola* Sacc. on the sugar beet ». Bul. of Beleya-Cerkev plantbreeding Stat. Sugar Trust, Kew 1927.

Sibilia C., « Ricerche sulle ruggini dei cereali ». Boll. d. R. Staz. d. Patol. Veg. di Roma, VIII, 1928.

Simonet M., « Note sur la *Phytophthora infestans* ». Journ. de la Soc. Nat. d'Hortic. de France, XXVI, 1925.

Smith E. F., « Crown-gall studies showing changes in plant structure due to a changed stimulus ». Journ. of agric. res., VI, 1926.

— « Mechanism of tumor growth in crowngall ». Ibidem, VIII, 1917.

Smith R. E., « The parasitism of *Botrytis cinerea* ». Bot. Gaz., XXXIII, 1902.

Sorauer P., « Die Praedisposition für parasitäre Krankheiten ». VI Congr. Intern. d'Agric. de Paris, 1900.

— « Handbuch der Pflanzenkrankheiten ». Berlin, III Aufl., 1908; V, 1924.

— « Neue Theorie des Gummiflusses ». Ztschr. f. Pflanzenkrankh., XXV, 1915.

Spinks G. T., « Factors affecting susceptibility to disease in plants ». Journ. of agric. res., V, 1913.

Stapp C., « Der bakterielle Pflanzenkrebs und seine Beziehungen zum thierischen und mennschlichen Krebs ». Ber. d. bot. Ges., XLV, 1927.

Stone R. E., « Incubation period of *Cronartium ribicola* on the white pine ». Phytopathology, VIII, 1928.

Taliev V. et *Grigorovic A.*, « De l'influence de charbon (Ustilaginées) sur la plante nourricière ». Trav. de la Sect. de Mycol. et de Phytopath. de la Soc. Bot. de Russie, I, Moscou 1923.

Thomas M., « Le cancer chez les animaux et chez les végétaux ». Rev. gén. d. Bot., XXI, 1909.

Tiessen H., « Ueber die im Pflanzengewebe nach verletzungen auftretend Wundwärme ». Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., XI, 1912.

Tischler G., « Ueber *Heterodera*-gallen an den wurzeln von *Circaea lutetiana* L. ». Ber. d. d. bot. Ges., XIX, 1901.

— « Untersuchungen über die Beeinflüssung des *Euphorbia cyparissias* durch *Uromyces pisi* ». Flora, N. F., IV, 1911.

Traverso G. B., « La peronospora del frumento in provincia di Padova e l'epoca della sua scoperta in Italia ». Il Raccoglitore, Padova 1906.

Tropova A. T., « Acidità attiva del succo cellulare di alcune piante e la loro attaccabilità da parte di funghi e bacterii ». Arb. d. Nord Kamsas Oersuchanst. Rostov am Dorr, 1928: russo.

Trotter A., « Nuove ricerche sui micromiceti delle galle e sulla natura dei loro rapporti ecologici ». Annales Mycologici, III, 1905.

Tubeuf v. Fr., « Pflanzenkrankheiten durch Kryptogame parasite verursacht ». Berlin, 1895.

Young P. A., « Penetration phenomena and facultative parasitism in *Alternaria, Diplodia* and another fungi ». Bot. Gaz., LXXXI, 1926.

Van der Veen R., « Onderzoekingen over tracheomykosen ». Thesis Univ. of Utrecht, Baarn 1930.

— « XII: On the effect of on organism in reducing the parasitic activity of another ». Ibidem.

Vavilov N., « Immunity of plants to infections diseases ». Acc. Petroskoe, Moscou 1919.

Viala P., « Recherches sur les maladies de la vigne: *Esca* ». Ann. d. Epiphyties, XII, 1926.

Voglino P., « L'azione del freddo sulle piante coltivate, specialmente in relazione al parassitismo dei funghi ». Ann. d. R. Acc. di Agric. di Torino, XLVI, 1903.

Volk A., « Einflüsse des Bodens, des Luft und des Lichtes auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Krankheiten ». Schaffnit's Phytopath. Ztschr., III, 1931.

Vuillemin P., « Association parasitaire de l'*Aecidium punctatum* et du *Plasmopara pygmaea* chez l'*Anemone ranunculoides* ». Bull. de la Soc. Bot. de France, XLI, 1894.

— « Considerazioni generali sulle malattie dei vegetali ». Trad. it. di *A. Zubiani*; in Trattato di Patol. Gen. di *Ch. Bouchard-Silva*, Torino 1896.

Wagner R. J., « Ueber bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen. I: Die gesunde Pflanze ». Centralbl. f. Bakteriol., II Abth., XLII, 1914.

Walker J. C., « Disease resistance to onion smudge ». Journ. of agric. res., XXIV, 1923.

— a. *Lindigren C. C.*, « Further studies on the relation of onion scale pigmentation to disease resistance ». Ibidem, XXIX, 1925.

— — a. *Bachmann F. M.*, « Further studies on the toxicity of juice extracted from succulent onion scales ». Ibidem, XXX, 1925.

Wallace H., « The production of intumescences upon apple twigs by ethylene gas ». Bull. of the Torr. Bot. Club, 53, 1926.

— « Histogenesis of intumescenses in the apple induced by ethylene gas ». Amer. Journ. of Bot., XV, 1928.

Wardlaw C. W., « The biology of banana wilt: Panama disease. - II: Preliminary observations of sucker infection ». Annals of Bot., XLIV, 1930.

Wellensiek S. J., « The nature of resistance in *Zea mays* L. to *Puccinia sorghi* Schw. ». Phytopathology, XVII, 1927.

White R. P., « Studies on tomato wilt caused by *Fusarium lycopersici* Sacc. ». Journ. of agric. res., XXXIV, 1927.

Wild N., « Untersuchungen über des Pulverschorf der Kartoffelknollen: *Spongospora subterranea* (Wallr.) Johnson ». Schaffnit's Phytopath. Ztschr., I, 1929.

Wille F., « Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Immunität und Reaktion des Zellsaftes ». Ztschr. f. Pflanzenkrankh., XXXVII, 1927.

Woolmann H. M., « Infectionphenomena and host reactions caused by *Tilletia tritici* in susceptible and nonsusceptible varieties of wheat ». Phytopathology, XX, 1930.

Zach Fr., « Studien über Phagocitose in den Wurzellknöllchen der Cycadeen ». Oesterr. bot. Ztschr., LX, 1910.

Zimmermann A., « Sammelreferate über die Beziehungen zwischen Parasit und Wirtspflanze. - I: Die Erysiphaceen ». Centralbl. f. Bakteriol., II Abth., LXIII, 1924.

— « II: Die Uredineen ». Ibidem, LXV, 1925.

Zoia A., « L'immunità delle piante ». Atti d. R. Ist. Bot. di Pavia, S. III, 2 1925.

CARBONE D. – La vaccination des plantes.

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Tout le monde sait que les plantes peuvent posséder une immunité congénitale vers plusieurs microrganismes; on se sert même beaucoup, pratiquement, de ce fait. Mais lorsqu'on affirme que ces organismes peuvent être immunisés de la même façon que les animaux, je pense que peu de savants, voudront y croire.

Depuis dix ans que j'étudie ce problème j'ai souvent trouvé mes lecteurs et mes auditeurs presque tous incrédules. Lors de notre congrès à Paris, en 1930, Haumann et les autres membres qui ont pris la parole, ont fait comprendre qu'ils ne partageaient point mon opinion sur cette question. C'est la raison qui m'a poussé a remettre ce problème sur le tapis, en espérant que les collègues voudront en faire l'objet de leurs discussions.

Je ne répéterai pas ici ce que nous avons déjà publié sur ce problème dans notre monographie (1) et je ne m'arrêterai point sur la question de l'existance de la phytothérapie active acquise, en nature, après une maladie.

Cette forme d'immunité fut concordement niée, à Paris, par tout le monde; en tous cas j'en laisse volontiers l'étude aux phytopathologues. Je préfère m'occuper ici, uniquement de la vaccination artificielle, qu'il est possible d'exécuter et de suivre au laboratoire; on peut donc l'étudier en suivant une méthode sévère moins sujette aux erreurs. Les recherches déjà anciennes de Beauverie et de Ray, et celles plus récentes de Zoja, d'Arnaudi, de Nobécourt (2) et les dernières études de Jarach, qui n'ont pas encore été toutes publiées (3), (4), sont en relation avec ces recherches.

Les travaux de Zoja et ceux de mon école ont été faits sur des lots de plantes assez nombreux pour pouvoir exclure les erreurs causées par les différences individuelles.

Toutes ces recherches ont permit d'observer le tableau, que nous pourrons appeler caractéristique, de la phytovaccination. Les jeunes plantes, traitées avec des extraits microbiens préparés de différentes façons, passent d'abord par une période que nous pourrons appeler d'intoxi-

(1) *Carbone* et *Arnaudi*, « L'immunité dans les plantes ». Monographies de l'Institut Sérothérapique de Milan, 1930.

(2) Citées à la note précedente.

(3) *Carbone* et *Jarach*, « Sur le mécanisme de l'immunité acquise active chez les plantes ». Bull. Soc. Ital. de la Soc. Intern. de Microbiologie, février 1931.

(4) *Jarach*, « À propos du mécanisme de l'immunité active acquise chez les végétaux ». En cours de publication.

cation. Portées, ensuite, sur des liquides nutritifs, elles se remettent. Si on les infecte alors avec des microrganismes vivants et virulents elles résistent à ce traitement ou bien elles vivent plus longtemps et en plus grande quantités que les plantes de contrôle, infectées de la même façon mais qui n'ont pas été vaccinées. Jarach, pour ses recherches, a vacciné une variété particulière de haricots contre la « Botrytis cinerea » pathogène, ou *toile*. Les photographies que je présente expliquent ce traitement mieux qu'une description quelconque.

En tous cas, même en l'admettant, on peut donner différentes explications de ce phénomène; il me semble, toutefois que la grande majorité des AA. refusent de l'interpréter, dans son mécanisme, d'une façon analogue à la vaccination des animaux.

Pour ce qui en est de l'immunité congénitale, je pens que tout le monde admet qu'elle est liée à la vie, chez les plantes comme chez les animaux. Ceci peut être démontré par le fait que, dans les deux règnes (animal et végétal), les tissus ne sont attaqués par les microbes saprophytes qu'après la mort, produite par la mort de tout l'organisme ou bien par la nécrose d'une de ses parties.

Un groupe d'expériences, citées dans une publication de Truffi (1) est particulièrement intéressante à ce propos. Les spores des agents de certaines dermatomycoses, inoculées dans le coeur des cobayes, ne reproduisent la maladie que sur la peau lésée d'une façon particulière, mais ne se multiplient point dans les organes intérieurs quoiqu'elles y vivent pendant plusieurs jours. Mais lorsqu'on enlève stérilement ces organes (foie, rein, rate) et si on les laisse au thermostate dans un ambiant humide, le mycélium du champignon les recouvre en peu de temps. D'ailleurs les organes morts de cobayes saines constituent un terrain de culture excellent pour les organismes en question. Ces germes, du reste, se développent aussi très bien dans les tissus d'une plante particulière, le « Cereus peruvianus »; mais leur développement est toutefois plus rapide et plus abondant sur les parties mortes de ce « castus » que sur la plante vivante.

Un grande nombre d'AA. a exprimé des doutes et était plutôt sceptique à propos de l'immunisation par la vaccination; mais un seul, Haumann, a résumé ses objections en une hypothèse, en me donnant ainsi l'occasion d'en faire la vérification expérimentale.

Haumann, en effet, au Congrès de Paris, a supposé que la plante vaccinée ne favorise point le développement du microrganisme simplement parce qu'elle est imprégnée par le liquide de culture ou par l'extrait microbien dont on se sert pour vacciner.

(1) *Truffi G.*, « Contribution aux problèmes des dermatomycoses expérimentales ». Bull. Inst. Séroth. de Milan, vol. X, fasc. I, pag. 11, janvier 1931.

Il ne serait donc question que d'une nouvelle forme du phénomène — bien connu — qu'on appelle généralement « vaccination des moyens de culture », qui a comme conséquence le fait qu'un terrain donné, dans le quel a vécu pendant un certain laps de temps, une espèce microbienne quelconque, n'est plus capable de faire vivre ces germes. La plante, en somme, n'aurait aucune action comme organisme vivant, mais ne serait que le soutien, inerte et passif de la substance anti-microbienne. Mais plusieurs faits s'opposent à cette hypothèse.

En effet, dans le cas étudié par Zoja les spores des champignons germaient généralement dans le liquide du vaccin et le froment vacciné n'avait presque perdu l'attraction chémotactique vers les germes eux-mêmes: je me suis donc proposé, avec les expériences de Jarach, d'étudier ces faits plus soigneusement. Quelques plantes d'haricot, vaccinées contre la *toile*, et quelques autres de contrôle, infectées avec ce champignon mais encore vivantes, furent tuées de différentes façons (en les chauffant légèrement avec des vapeurs d'ether, en les refroidissant à -45° C.) et infectées ensuite avec la *toile*: elle se développa très bien sur les plantes mortes, tandis que'elle n'eut aucune action — comme je l'ai déjà fait remarquer — sur les plantes vaccinées vivantes.

Le doute que les opérations faites pour tuer les plantes aient pu détruire le pouvoir anti-microbien du liquide vaccinant fut éliminé avec des expériences particulières qui ont démontré que ce pouvoir résistait très bien à ces opérations et même qu'il ne ressentait point l'action d'une température plus haute: mais une dilution, même très légère, le diminuait d'une façon considérable.

Une autre caractéristique de la vaccination des plantes et de celle des animaux semble être la spécificité, qui trouve un appui dans les expériences d'Arnaudi à propos de la vaccination des petits pois contre la « Blepharospora cambivora » (Petri), relatées dans la monographie dont nous avons déjà parlé.

Cet A. pense, bien qu'il soit nécessaire d'être très prudent avant d'émettre des conclusions, que le scepticisme aprioristique à propos des analogies existantes entre l'immunité vaccinale des plantes et des animaux, n'a pas raison d'être. En tous cas, et en laissant de côté toutes les probabilités d'une application pratique, la question de la phytovaccination, mérite d'être étudiée plus profondément car elle a une grande importance théorique pour la biologie générale.

CARMELITA CASAGRANDI – **Sur la présence de Bacidioboles dans l'homme.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'origine de cet étude remonte à l'examen, fait il y a quelques années, d'une patine de couleur grisâtre, très adhérente, qui se trouvait sur la surface d'un fragment d'ulcère gastrique. Elle provenait d'un individu de Rovigno (Istria).

Ce matériel, examiné au microscope, laissait voir des formes rondes, capsulées, nucléaires, dont le contenu était très menu et granuleux: quelques unes présentaient aussi un reliéf à mamelons très réguliers. D'autres formes étaient par contre comme étranglées à un certain point et continuaient ensuite en prenant la forme d'un petit bâton, qui ressemblait beaucoup à un Baside.

Cette observation a poussé l'A. à étudier si cette patine n'était par hasard point produite par un Basidiobole. En premier lieu il a fallu consulter les travaux touchant ces champignons particuliers qui ont été trouvés par différents. AA. dans l'intestin de plusieurs espèces d'animaux et surtout des truites. On aurait observé, chez ces poissons des agglomérations alimentaires formant des pseudo-tumeurs, dans lesquelles se développerait une forme qui fut appelée *Ichthyophonus intestinalis* (Léger et Hesse, 1923). D'après ces Auteurs elle rappelle l'*I. hoferi* (Plehn et Mulsow) et aurait un pouvoir pathogène très marqué pour les salmonides dont elle envahirait tout l'appareil digérent, depuis l'oesophage au rectum.

D'autres recherches semblent prouver que cette forme se trouve aussi dans les grenouilles et dans les lézards. Etant donné le fait que le malade venait de Rovigno, et vu que Loewenthal avait fait des études sur les lézards des îles qui se trouvent en face de cette ville, et spécialement sur la petite île de Figarola, l'A. a pensé de confronter le matériel provenant de l'ulcère avec celui que l'on trouve dans l'intestin de ces lézards. Elle a ainsi remarqué, qu'il y a une grande ressemblance entre la forme provenant de l'homme et celles décrites par Loewenthal pour les lézards. Mais l'A. a remarqué, en outre, que les formes que l'on observe au microscope possèdent toutes les caractèristiques de celles que l'on obtient dans les cultures et spécialement de celles qui produisent des hyphes aériennes, et non celles des formes qu'on trouve en général dans les excréments et dans l'intestin de ces animaux.

Il serait donc question de conidies.

L'A. aurait trouvé, dans ce cas, sur la surface de l'ulcère des formes qui, d'après plusieurs études et spécialement d'après les observations de

Loewenthal, n'ont jamais été remarquées dans les animaux, soit vivants, soit « post mortem ».

L'A. décrit ensuite, au cours de ces recherches, les différentes formes que ce parasite présente, ce qui semble lui donner raison pour l'interprétation qu'elle donne de ce phénomène. Elle ne le considère pas, en effet, comme un développement mycélien accidental « post mortem », sur le matériel pathologique, mais comme une affection qui existait avant la scission de la partie; ce fait est donc en relation avec la question des rapports existants entre l'ulcère gastrique et le développement des champignons. L'A. met ensuite en relation ses recherches avec les faits qui ont été observés à propos des rapports qui lient le développement du champignon et l'acidité de l'ambiant, et avec les phénomènes de scission des éléments cellulaires sous certaines conditions qui peuvent aussi se produire dans l'estomac des animaux supérieurs.

Comme conclusion l'A. est portée à croire que ce champignon se développe même sous des conditions qui semblent ne pas pouvoir être démontrées, et qui ont des rapports avec celles sous lesquelles se développent d'autres mycoses, donnant lieu à des stades sur l'existence desquelles on n'avait jusqui aujourd'hui nul doute. L'A. signale donc le premier cas d'infection humaine due à un basidiobole: tout en faisant remarquer la grande ressemblance entre la forme décrite et celle connue sous le nom de *B. lacertae*, l'A. l'appelle *B. hominis*; elle fait enfin observer, pour la première fois l'existance de formes conidiennes dans l'infection provoquée par ce champignon et la possibilité qu'il existe sous des formes très différentes de celles que l'on connait et que l'on observe avec les moyens dont nous disposons.

SETTE N. – **Recherches ultérieures à propos du poison de la " Meloe Proscarabaeus ".**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Au cours d'une précédente communication faite à l'Académie du Piceno, dans la Séance du 31 Août 1930, j'ai rapporté un cas d'empoisonnement produit par un coléoptère, ayant amené la mort d'une enfant de 21 mois, en 24 heures environ.

Après m'avoir procuré quelques exemplaires de cet insecte et en ayant recours à l'aide de M.le Prof. Giulio Alessandrini, j'ai pu classifier ce coléoptère comme étant une « *meloe proscarabaeus* » (Lin.). J'ai voulu, ensuite, entreprende une étude sur la nature et sur les effets de ce poison chez les animaux à expérience.

On sait déjà que de nombreux coléoptères, outre le revêtement de chitine, possèdent aussi des produits d'échange matériel pour leur défens; ces produits sont sécrétés par des glandes, ou bien ils sont répandus dans tous les tissus et ils sont versés dans le liquide sanguin qui, à un moment donné, est émis, le plus souvent, au niveau des articulations.

La *Meloe scarabaeus* appartient à la famille Méloide, dans laquelle on comprend aussi la Cantharide commune (*Lytta vescicatoria*, Lin.).

Il paraît que ces coléoptères, que je suis en train d'étudier, étaient déjà connus par Galien et Dyoscoride aussi, qui les appelaient *Buprestes*; ils croyaient en effet, que ces insectes, avalés par les bêtes bovines, étaient capables de donner des accès de fureur er de provoquer des tuméfactions si graves qu'ils pouvaient aboutir à la mort des animaux. Leur pouvoir toxique était tellement connu que la « Lex Cornelia » en parle elle aussi. On condamnait à mort, en effet, ceux qui mélangeaient le *Brupeste* aux aliments et aux boissons; on reconnaissait que son action était identique à celle de la Cantharide, car Agricola, en parlant de son emploi, dit: « *Urinam potenter pellant, sed una sanguinem* ».

Les premières expériences communiquées en même temps que le cas clinique, et les expériences que je suis en train d'exposer, ont été toutes poursuivies avec le même matériel que j'ai préparé de la manière suivante:

J'ai écrasé soigneusement, dans un mortier, cinq *Meloe* que j'ai reprises moyennant 200 cmc. d'eau distillée; j'ai laissé macérer tout cela en glacière, pendant 24 heures; je l'ai ensuite dégrossi à l'aide de la farine foxile et je l'ai enfin philtré sur bougie Berkefeld N.

Le liquide, ainsi obtenu, fut placé, après les épreuves de stérilité, dans de petites fioles et, ensuite je m'en suis servi pour les essais biologiques, de même que pour quelques essais chimiques. J'ai commencé mes expériences à une époque avancée, par rapport à la vie de ces coléoptères, et par conséquent je n'ai pu avoir à ma disposition la quantité d'insectes dont j'aurais eu besoin pour une étude complète. C'est pourquoi j'ai aimé mieux pour le moment, poursuivre seulement les recherches qui m'auraient permis de donner un coup d'oeil d'ensemble au sujet, tandis que je me propose de continuer mes études par des recherches systématiques.

Le liquide ainsi obtenu, après philtration, montre une réaction alcaline; son aspect est limpide, sa couleur jaune, tirant sur le brun; son odeur désagréable n'est pas de pourriture, mais elle est identique à celle qui se dégage par les *Méloes* vivantes; le liquide en question réagit positivement par rapport aux réactions: xanthoprothéique, de Millon et au biuret. La recherche de la Cantharide, pratiquée sur 10 cmc. de liquide, a été négative.

Les épreuves expérimentales que j'ai poursuivies peuvent être brièvement résumées dans le schéma suivant:

1) *Expériences pratiquées moyennant l'extrait aqueux filtré sur bougie*:

a) *in vivo*: par la voie péritonéale chez les cobayes; sous-cutanée chez les cobayes; gastrique chez les lapins; conjonctivale chez les lapins; intraveineuse chez les lapins.

b) *in vitro*: épreuves d'hémolyse par rapport au sang de l'homme; du mouton; du boeuf; du cobaye; du cochon; du lapin; du poulet.

2) *Expériences pratiquées moyennant le liquide chauffé à* 100°:

a) *in vivo*: par la voie péritonéale chez le cobaye;

b) *in vitro*: par la voie sous-cutanée chez le cobaye.

3) *Expériences pratiquées moyennant le liquide chauffé à* 120:

a) *in vivo*: par la voie péritonéale chez le cobaye;

b) *in vitro*: par la voie sous-cutanée chez le cobaye.

4) *Expériences pratiquées moyennant le liquide gardé au thermostate à* 37° *pendant un mois, avec du formol au* 4%:

a) *in vivo*: par la voie intraveineuse chez le lapin;

b) *in vitro*: par la voie intrapéritonéale chez le cobaye.

5) *Épreuves d'immunité*:

a) *in vivo*: accoutumer les animaux moyennant le liquide philtré, tel qu'il est;

in vivo: accoutumer les animaux moyennant le liquide philtré, gardé au thermostate à 37°, avec du formol au 4%;

b) *in vitro*: recherche des précipitines.

6) *Recherches sur la neutralisation du poison*:

a) de la part des organes des animaux morts par suite d'empoisonnement;

b) moyennant le sérum obtenu de l'animal immunisé.

Le liquide que j'ai obtenu est très toxique; en effet, lorsqu'il a été employé dans la quantité de 0 cmc. 20, par la voie péritonéale, et d'un cmc. par la voie sous-cutanée, chez les cobayes inoculés ayant un poids de 500 gr. environ, il a provoqué d'abord un sens d'agitation, ensuite de la tristesse, l'accroupissement dans la cage et le refus de toute nourriture, jusqu'à la mort, qui est arrivée deux heures environ après l'inoculation.

À l'autopsie j'ai remarqué: congestion des organes abdominaux et entérite; vessie urinaire contractée; sang non coagulé dans le coeur.

Quant aux lapins ayant un poids supérieur aux deux kilos (exception faite pour les deux premiers ayant un poids d'environ deux kilos), qui ont survecu à une injection respectivement de 0 cmc. 50 et de 0 cmc. 80, on a constaté que la quantité de 0 cmc. 50 de liquide, inoculée par la voie veineuse, a été léthale; en effet la mort arriva dans un delai de temps d'environ deux ou trois heures.

Chez les lapins inoculés, on observe tout de suite une polypnée qui est suivie par perte d'urines et d'une grande quantité d'excréments diarrhoïques, abaissement de la température rectale accablement, refus de nourriture et mort en proie aux contractions tonico-cloniques.

L'administration de 4,5 cmc. de liquide par la voie gastrique, essayée chez un lapin de 2,300 kilos, à l'aide d'une sonde, a entraîné la mort de l'animal. À l'autopsie j'ai pu remarquer seulement une distension énorme de l'estomac et des anses intestinales.

L'instillation du liquide dans le sac conjonctival détermine une conjonctivite et une légère opacité de la cornée; ces troubles ne persistent que quelques jours.

Le poison n'explique, *in vitro*, aucune action hémolytique ni par rapport au sang humain, ni à celui de mouton, de boeuf, de cobaye, de cochon, de lapin et de poulet.

II.ème *Groupe d'expériences*:

Le liquide gardé pendant quinze minutes dans le bain-marie très chaud, ne perd pas son pouvoir toxique, mais il apporte peut-être quelques modifications: le tableau symptômatologique montré par les cobayes inoculés avec ce liquide, est en effet un peu différents de celui des cobayes inoculés avec du poison non chauffé. Les cobayes de ce groupe, quinze minutes après l'inoculation, étaient en proie à des secousses tonico-cloniques, à une dyspnée aiguë et au conséquent début de la paralysie du train postérieur; ils sont morts environ deux heures après l'inoculation.

IIIème *Groupe d'expériences*:

Les deux cobayes inoculés moyennant le liquide gardé pendant quinze minutes à l'étuve, à 120°, ont succombé deux heures environ après l'inoculation.

IVème et Véme *Groupe d'expérience*:

Chez les animaux que j'ai inoculés avec une dose sub-léthale de poison, je n'ai pu remarquer aucune résistance au poison même; au contraire, j'ai observé une certaine sensibilisation; en effet ils sont morts à la suite

d'injections successives, avec une symptomathologie qui m'a paru être celle de l'anaphylaxie.

En ajoutant du formol au poison, dans la quantité du 4% et en gardant au thermostate, à 57°, pendant un mois, le liquide ainsi traité, le poison est modifié en ce que son pouvoir toxique a été atténuué.

Un cobaye a pu supporter plusieurs inoculations du poison ainsi traité et il a supporté, ensuite, des doses léthale de poison; dans le sérum du lapin, j'ai fait ressortir les précipitines qui augmentaient en même temps que l'immunité progressait.

Un cobaye inoculé par la voie péritonéale avec 3 cmc. du poison ainsi traité, est mort au bout de trois heures; par conséquent le poison a été atténué, mais non pas détruit par le susdit traitement.

VIéme *Groupe d'expériences*:

Les mélanges de différentes doses de sérum du lapin immunisé avec des quantités mortelles du venin, n'en modifient point la toxicité; en effet, même les cobayes inoculés avec ce matériel sont morts.

Par contre, les inoculations de sang et celles de foie, de rate, de rein d'animaux morts à cause des doses mortelles de poison, n'ont aucune influence sur les cobayes.

De quelle nature est-il donc ce poison?

D'après tout ce que j'ai rencontré dans la littérature que j'ai pu consulter, on suppose que la substance qui serait contenue dans la *Meloe* c'est la cantharidine, parce que ce genre, ainsi que la *Mylabris* et la *Lytta* renferme une substance véscicatoire.

Mais je ne suis pas d'avis qu'on doive songer ici tout simplement à l'action pathogene de la cantharidine autant parce qu'elle n'est pas soluble, ou du moins qu'elle est peu soluble dans l'eau distillée, que parce qu'en 10 cmc. de liquide extrait des *Meloes* on n'a pu trouver la Cantharidine, tandis que le même liquide a amené la mort des cobayes avec une quantité de 0,20 cmc. et des lapins avec une quantité de 0,50 cmc.

La possibilité d'obtenir des précipitines dans le sérum du sang des lapins inoculés plusieurs fois avec des quantités très petites de liquide; la possibilité de provoquer l'anaphylaxie; la positivité des réactions xanthoprothéiques de Millon et du biuret; les petites modifications amenées par le chauffage du liquide, en ce sens que le tableau symptômatologique, dans lequel la mort des animaux survient, est modifie; tout ceci me fait songer à l'analogie existante entre ce poison et celui de quelques serpents.

En tous cas, pour n'avoir plus aucun doute, j'ai voulu instituer des expériences comparatives — que je suis en train de faire — avec les différents genres de coléoptère véscicatoires communs en Italie, à savoir: *Lytta, Meloe, Mylabris.*

BIETTI G. B. – **Nouvelles recherches sur le bacterium granulosis (Nogouchi).**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Il y a un an, j'ai annoncé dans le «Bollettino di Oculistica », d'avoir pu isoler — en deux cas de trachome récent, sur seize que j'ai examinés, et qui n'avaient jamais été traités — un germe semblable a celui que Nogouchi isola en 1927 et qu'il appela « bacterium granulosis »: cet A. le considéra comme l'agent étiologique du trachome, et il affirma, en outre, d'avoir obtenu un trachome expérimental sur des singes en se servant précisément de ce germe. Il est question d'un germe très petit, gram-négatif, qui rappelle, par la façon dont il se dispose dans les préparés, le corynebacterium: il est mobile, non-sporigène et doué d'un pouvoir de fermentation très prononcé sur les hydrates de carbone. Ce pouvoir augmente avec le temps de l'isolement. Ce germe se développe facilement sur les terrains à l'agar-sang, surtout si on y ajoute des hydrates de carbone, et sur les terrains sémi-solides par leptospire (ces terrains ont servi pour l'isoler); après un certain nombre de passages et après l'avoir habitué a vivre en culture on peut aussi le cultiver sur agar simple, bien qu'il s'y développe beaucoup moins bien. La température « optima » est à 30°, mais il pousse aussi a de températures inférieures et à 37°.

J'inoculais les deux souches isolées sous la conjonctive à deux « *Macacus rhesus* » mais les résultats furent négatifs; l'inoculation sur l'homme (que je pratiquais sur ma personne) fut aussi négative.

Les inoculations n'ayant aucun succès, je fis alors remarquer que le « rhesus » (c'est l'animal dont Nogouchi s'est surtout servi pour ses recherches) n'est pas très sensible au trachome, que le nombre des singes employés pour les espériences était plutôt restreint, et qu'à propos de l'expérience sur l'homme il était possible que le germe eut perdu son pouvoir infectant après une longue période de vie à l'état de saprophyte. (Cette expérience, en effet, fut négative sur une personne, comme elle l'avait été pour les autres AA. qui l'avaient pratiquée, excepté pour le cas que Addario a publié tout dernièrement, mais dont on ne connait pas encore toutes les données). La question n'est donc pas résolue: il faut encore etablir la pathogénicité du « bacterium granulosis » et étudier sa présence sur les sujets atteints de trachome.

Les travaux de Tilden et de Tyler confirment d'une façon frappante l'oeuvre de Nogouchi, mais il ne faut pas oublier que Heymann et surtout R. P. Wilson ont publié entretemps des mémoires négatifs. J'ai donc continué les recherches de transimission du trachome aux singes, par l'ino-

culation du «Bacterium granulosis» que j'avais isolé, mais bien que ce fut mon intention, je n'ai pas encore pu faire de nouveaux essais d'isolement, car les cas récents, n'ayant jamais été traités — et ce sont ceux qui sont indispensables pour ces recherches — m'ont fait défaut. J'ai donc inoculé un deuxième groupe de sept « Macacus rhesus », en injectant sous la conjonctive de l'oeil droit deux gouttes d'une émulsion en bouillon de patine de 48 heures, des deux souches. Dans ma communication précédente j'ai fait observer qu'il était indispensable de faire un examen préventif très serieux de la conjonctive des animaux. Souvent les singes, et même d'autres animaux, les lapins par exemple, souffrent de formes folliculaires simples ou inflammatoires qui se manifestent et disparaissent spontanément: certains AA., toutefois, pensent que ces formes peuvent empirer ou même diminuer à cause d'une intervention sur la conjonctive. Comme je l'ai déjà fait observer, dans un groupe de quinze « Rhesus », je n'en ai trouvé que trois qui en étaient indemnes sans doutes possibles. On peut donc facilement se rendre compte de l'importance qu'ont ces processus spontanés de la conjonctive des singes, surtout, lorsqu'on a l'intention de se servir de ces animaux pour les expériences à propos du trachome; il semble que Nogouchi n'en a pas tenu assez compte dans ses recherches. Trois des sept singes dont on s'était servi étaient absolument indemnes de folliculite: trois autres présentaient quelques follicules, pâles, à la conjonctive de la paupière supérieure (pour un cas il n'était question que de l'oeil droit): le dernier, enfin, présentait un grand nombre de follicules inflammatoires et non-inflammatoires (1) aux deux yeux, accompagnés d'hyperémie, d'un légèr chémosis et de sécrétion. Deux de ces animaux moururent trois semaines après l'inoculation, sans qu'il fut possible de remarquer aucun changement dans l'aspect de leur conjonctive, qui était parfaitement saine pour l'un des animaux et ne présentait que quelques follicules dans l'autre.

Le « Rhesus » atteint de la forme folliculaire inflammatoire spontanée ne démontra, pendant longtemps, aucun changement ni aucune modification du processus: ce ne fut que quelques mois après, au commencement de l'hiver dernier, que les processus inflammatoires diminuèrent lentement et enfin cessèrent. Il ne subsistèrent que quelques follicules

(1) Comme d'autres l'ont fait, j'ai considéré comme inflammatoires les follicules qui à cause de leur aspect et à cause de la façon dont se présente le tissu qui les couvre et celui qui les entoure, démontrent l'existance d'un processus inflammatoire auquel la muqueuse conjonctivale voisine participe activement, avec essudation, hyperémie, etc., en présentant, en somme, tous les signes cliniques de la phlogose: j'ai considéré au contraire comme étant non inflammatoires les follicules pâles qui se forment d'une façon semblable à celle des nodules lymphatiques qu'on observe dans les conjonctives normales, en présentant tout au plus une légère irritation qui n'a produit que peu de lymphocytes en quelques points localisés sous l'épithélium, sans que la muqueuse voisine et le tissus qui les couvre souffrent des phénomènes phlogistiques qu'on observe dans les formes folliculaires dont j'ai parlé plus haut.

sans manifestations phlogistiques. Pour l'un des deux singes qui présentaient quelques follicules on ne put observer aucune altération du processus, tandis que pour l'autre (qui présentait des follicules sous l'oeil gauche où l'on n'avait jamais pratiqué aucune injection) je pus observer que ces follicules disparaissaient, mais que d'autres s'étaient formés sur l'oeil droit. Les deux derniers animaux, dont les conjonctives étaient saines, un ou deux mois après l'inoculation, présentaient de rares follicules non inflammatoires sur les deux yeux: pour l'un de ces animaux ils se manifestèrent en premier lieu sur l'oeil inoculé et quinze jours après aussi sur l'autre.

Ces formes folliculaires, qui furent tenues en observation pendant quelques mois, ne se modifièrent plus.

En résumant on a donc remarqué, sur trois singes, l'apparition de quelques follicules, dont l'aspect était identique à celui des follicules observés sur des animaux qui n'avaient pas été traités; ces follicules n'étaient point inflammatoires, ne produisaient aucune altération de la muqueuse voisine, et n'étaient pas progressifs. Étant donnée la nature de ces follicules et leur façon de se produire et de se comporter, il ne me semble pas qu'il faille les mettre en relation avec l'inoculation du « bacterium granulosis »: il me semble plus probable qu'ils se soient formés indépendemment de ce fait et que l'expérience ne doit pas être considérée positive. Les expériences que j'ai décrites avaient déjà été faites, lorsque, par la complaisance du dr. Olitsky de l'Institut Rockefeller de New York, on m'envoya une souche de « Bacterium granulosis » tout dernièrement isolée en Amérique et qu'on disait être pathogène pour les singes. Ayant examiné les caractères biologiques et culturaux de cette souche on vit qu'elle correspondait au germe reconnu et isolé par Nogouchi. Ce germe se développe aussi sur les terrains à l'agar simple, bien que d'une façon moins prononcée que sur les terrains au sang. Les dernières recherches de Tilden et de Tyler on fait connaître qu'il est sensible à l'action de la cocaïne, qui dans la proportion du 3-4% le tue en peu de temps: ce qui n'a pas lieu si l'on se sert de la novocaïne. D'après les AA. que l'on a cités plus haut, ce fait peut servir à expliquer certains des résultats négatifs que quelques savants ont obtenu, car ils avaient isolé le germe sur des sujets atteints de trachome qui avaient été cocaïnisés auparavant. Ce germe, en outre, a une grande vitalité: il était encore vivant et transplantable après avoir été laissé pendant 100 jours à la température ordinaire sur un terrain sémisolide à la leptospire. En me servant aussi de cette souche j'ai commencée une troisième série d'expériences en inoculant sept autres singes. Deux furent inoculés sous la conjonctive, dans l'oeil gauche, avec deux gouttes d'une émulsion en bouillon de patine de 48 heures, de la souche de « B. granulosis qui m'avait été envoyée de New-

York. Ces « Rhesus » qui présentaient quelques follicules sur le tarse, trois mois après l'inoculation, n'avaient encore manifesté aucun changement dans l'état de leurs conjonctives. Trois autres singes, qui ne présentaient absolument aucun follicule, furent traités à l'oeil gauche, comme les précédents: mais j'inoculais dans leur oeil droit une émulsion de patine des deux souches que j'avais isolées. Ces animaux, comme les autres, deux mois après l'inoculation ne présentèrent aucun fait particulièrement intéressant. Les deux derniers « Rhésus », enfin, qui avaient quelques follicules non-inflammatoires sur le tarse, furent traités de la façon suivante: on leur scarifiait la conjonctive de la paupière supérieure avec la point d'un bistouri et on y frottait énergiquement un petit amas de ouate sur lequel on avait déposé auparavant de la patine à inoculer. Jusqu'à aujourd'hui, c'est à dire 30 jours après l'inoculation, on n'a observé qu'une légère hyperémie des conjonctives en O. O.: cette hyperémie s'est conservée stationnaire et possède les caractères de celles que l'on observe sur d'autres singes surtout pendant les premiers jours; ou ne peut, en tous cas, pas établir le diagnostic d'un processus en train de se developper.

Si de nouveaux phénomènes se manifesteront sur ces animaux et sur d'autres qui sont toujours en observation je m'empresserai de les faire connaître. À propos de la période d'incubation du « B. granulosis » il me semble bon de faire remarquer que, d'après ce que l'on peut deduire en se basant sur les travaux de l'Institut Rockefeller, cette période varie entre 8 jours et 5 mois (pour le 40% des cas depuis 8 jours à 1 mois, pour le 20% entre 3 et 5 mois et pour le 40% entre 1 et trois mois). Mais il semble curieux que le temps d'incubation varie d'une façon si considérable pour la même souche et sur des animaux de la même espèce, et que la grande quantité du matériel infectant fournie par une culture donne lieu à une incubation qui dure souvent plus longtemps que celle qu'on observe dans la transmission directe de l'homme à l'homme et du singe à l'homme.

On sait, en effet, que pour ces derniers cas la période d'incubation n'a été que de 7 à 10 jours; on n'est arrivé à quatre semaines que pour des cas extraordinaires, en se servant de matériel peu virulent ou atténué et d'animaux peu sensibles. Il me semble donc que les cas pour lesquels la période d'incubation a été très longue, doivent être étudies à fond avant d'être considérés comme positifs.

MAGGIORA-VERGANO R. – **Résultats de l'immunisation active dans la prophilaxie de la diphtérie.**

(Relation au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Après la découverte de l'antitoxine diphtérique et les successives applications de Roux et Yersin, de Martin et Chaillou, communiquées au Congrès de Budapesth, en 1894, l'emploi du sérum antidiphtérique se répandit rapidement et la mortalité par diphtérie subit une diminution progressive. Au contraire la morbidité par diphtérie ne diminua pas en proportion, bien que l'emploi du sérum, à un point de vue prophylactique, ait été effectué sur une large échelle. Comme on le sait celui-ci peut donner une immunisation rapide, mais temporaire et de courte durée; il était donc nécessaire de chercher un moyen qui nous donnât la possibilité d'obtenir une immunisation active et sûrement durable.

La vaccination spécifique, pratique, simple et efficace a pu réaliser cette immunisation et assurer la diminution de la morbidité par diphtérie.

Bandi et Gajboni, en Italie, depuis 1905; Behring, en Allemagne; Zingler aux États-Unis, en 1913, tentèrent d'atteindre ce but, avec des mélanges de toxines et d'antitoxines dans diverses proportions; mais, bien que ceux-ci et d'autres AA. aient obtenus des résultats satisfaisants, toutefois la methode ne s'est pas montrée complètement dépourvue d'inconvenients. De fâcheux incidents ne manquèrent pas, en vérité, de se produire en Belgique, à Vienne, dans le Texas, dans le Massachusset, en Australie et ailleurs; incidents dûs, en toute probabilité, à un excès de toxine ou à des phénomènes de dissociation du mélange de toxine et d'antitoxine.

Mais la vaccination antidiphtérique fit un grand pas avec la découverte faite en 1923 par Ramon, lequel nous a donné avec l'anatoxine un moyen efficace pour l'immunisation active contre la diphtérie. Les premières tentatives d'application de l'anatoxine à l'homme sont de Martin et de Zoeller et d'autres, lesquels en inoculant l'anatoxine constatérent, chez les individus vaccinès, une augmentation de la quantité d'antitoxine dans le sérum de sang et virent la réaction de Schick, de positive devenir négative.

En 1924 les essais d'immunisation active avec l'anatoxine entrèrent dans la période de l'exécution pratique et se répandirent rapidement, spécialement en France. D'après ce qu'en dit Ramon, en 1928, on avait atteint le chiffre important d'un million de vaccinations, sans que l'on ait constaté de sérieuses complications. Ces vaccinations furent faites dans les circonstances les plus variées et même pendant les épidémies;

sur des individus de différents âges, dans des milieux très divers: écoles, sanatoria, casermes, familles particulières, dans de petits centres ruraux, dans de grandes villes et les résultats ont été très satisfaisants, atteignant de hauts pourcentages de Schick-négatifs s'approchant de 90 à 95% et même davantage.

La durée de l'immunisation produite par l'anatoxine et controlée avec l'essai de Schick, toujours d'après Ramon, est d'au moins un ou deux ans et même davantage; en outre la vaccination avec l'anatoxine possède d'autres avantages pouvant être effectuée même dans des localités infectées et en temps d'épidémie; fait important parce qu'il permet de fournir un moyen pour enrayer une épidémie déclarée, alors que c'est précisément en cette circonstance que la population s'assujettit plus facilement à la pratique de la vaccination, poussée par l'obsession du danger.

Toutefois il est bien entendu que les vaccinations doivent être considérées et effectées de préférence comme mesure préventive en temps normal.

À la suite des excellents résultats obtenus en France, le 6 décembre 1927, l'Académie de Médecine de Paris émit le voeu que la vaccination antidiphtérique par l'anatoxine, fut systématiquement appliquée aux enfats qui frequentent l'école et le Ministre de l'Hygiène émana, à ce sujet, des disposition rigoureuses pour la plus large diffusion.

Le vaccinations qui, en 1927, avaient été d'environ 100.000, en 1928, atteignirent le chiffre imposant de 300.000 ; et cet accroissement progressif ne fut pas seulement constaté en France, mais encore en Belgique, où, pendant les cinq premiers mois de 1928, elles s'élevèrent a 10.000, tandis qu'à présent le chiffre total des vaccinés est de 100.000. Au Canada où, en ces dernières années, l'anatoxine a remplacé rapidement le mélange de toxine et d'antitoxine, les vaccinations ont dépassé le nombre de 600.000. Zdrodowski et Haliapine déclarent que dans la ville et la province de Bakou, furent effectuées environ 30.000 vaccinations avec l'anatoxine et qu'ayant été gardés en observation, pendant deux années, de nombreux vaccinés, aucun d'eux n'a été frappé de diphtérie, tandis que parmi les non vaccinés, pendant la même période on a constaté 550 cas de diphtérie vérifiés bactériologiquement. Des données favorables ne manquent pas sur les vaccinations effectuées dans l'Amérique du Sud, au Japon, en Egypte, en Pologne, en Danemark, en Hongrie et en Tchécoslovaquie.

Seligmann pense qu'à Berlin les vaccinés sont plus de 100.000, vaccinations privées comprises. Il a pu recueillir des renseignements exacts sur 88.172 vaccinés de 0 à 15 ans; de ceux-ci 11.592 de 0 à 5 ans et 76.580 de 5 à 15. Ont été traités 65.983 avec toxine-antitoxine flocculée Schmidt et 22.189 avec mélange T. A. Behring.

Seligmann, tout en ne voulant pas déduire des conclusions définitives sur la bienfaisante influence de la vaccination antidiphtérique, constate toutefois que la morbidité un an après la vaccination a été quatre fois moindre de celle des non vaccinés.

Aux Etats-Unis les vaccinations anti-diphtériques ont été commencées par Sark avec le mélange toxine-antitoxine, en 1914, mais déjà, en 1919, elles avaient été étendues à 33 ecoles publiques qui atteignirent le nombre de 125 en 1920, et après 1923 Seligmann affirme que la vaccination antidiphtérique avait été généralisée dans toutes les écoles publiques et, à présent, on peut considérer que 99% de toutes les villes des Etats-Unis vaccinent contre la diphtérie. En 10 ans on été exécutées plus d'un million de réactions de Schick avant et après vaccination, soit comme réaction de controle à la vaccination, soit pour reconnaitre ceux qui sont susceptibles d'infection diphtérique. Avec tout cela on peut évaluer, tout au plus, à un tiers le nombre, des écoliers immunisés. Dans la seule ville de New-York il y en a, à présent, plus de 125.000 enfants de moins d'un an et 1.250.000 écoliers dont 550.000 au-dessous de 10 ans. Du 1.er janvier au 1.er décembre 1929 il résulte que 211.985 enfants ont été vaccinés à New-York et les observations sur la marche de la morbidité et sur la mortalité par la diphtérie montrent que celle-ci est considérablement diminuée.

L'ensemble de ces nombreuses observations et de données certaines sur les vaccinations antidiphtériques relevées en France et dans beaucoup d'autres pays ont mis en évidence l'efficacité de cette méthode dans la lutte contre la diphtérie.

En Italie la Direction Général de la Santé Publique du Royaume, après avoir chargé une Commission de prendre en examen l'état actuel de la vaccination antidiphpérique à l'Étranger et en Italie, a publié une circulaire en date du 21 décembre 1929 qui constitue une mise au point précise, détaillée et bien claire de la vaccino-prophylaxie de la diphtérie. Ce document qui a été cité dans une récente pubblication du même Ramon est reconnu comme un excellent guide qui pourra être utilement consulté par les organisations d'Hygiène des autres nations. Dans cette circulaire on fait d'abord une courte allusion à la préparation de l'anatoxine diphtérique, sur les modes d'emploi, sur les réactions vaccinales et sur les contrindications de la vaccination ; suivent quelques considérations sur la durée de l'immunisation déterminée par l'anatoxine, l'âge et la saison préférables pour la vaccination, l'extension à donner au traitement vaccinal et le controle du résultat. Après avoir indiqué les instructions techniques pour l'exécution des vaccinations, on invite tous les médecins à collaborer avec les Autorités Sanitaires pour une large et efficace action de propagande populaire avec une suffisante organisation des ser-

vices. Et enfin est recommandé l'exact enregistrement et le controle des vaccinations, l'évaluation des résultats et, étant établi que les frais pour le service des vaccinations anti-diphtériques sont à la charge de la Commune, avec le concours de la Province et, dans les limites des disponibilités des fonds pour la prophylaxie des maladies infectieuses, avec le concours également du Ministère de l'Intérieur.

En septembre 1930 avec une nouvelle circulaire la dite Direction Générale de la Santé Publique appelait l'attention sur la nécessité d'une action prophylactique plus intense et organique contre l'infection diphtérique en donnant les instructions pour que la vaccination anti-diphtérique soit faite avec soin tout particulier parmi les collectivités de jeunes gens. En outre l'on recommande la plus grande diffusion dans les écoles, et là où cela est nécessaire, de faciliter l'institution de centres spéciaux de vaccination ; l'on recommande enfin de soigner l'enregistrement exact des vaccinés, autorisant la délivrance de certificats gratuits de vaccination.

Ce vif intérêt des Autorités et le fait même que les vaccinations anti-diphtériques étaient conseillées avec insistance, fit que dans beaucoup de provinces les vaccinations furent effectuées sur une large échelle. Tandis que jusqu'à cette époque elles étaient restées à l'état de louable mais rares initiatives de quelques officiers sanitaires de bonne volonté, en peu de temps elles montérent à un chiffre élevé qui, d'après les rapports jusqu'à présent parvenus des diverses Provinces, est d'anviron 80.377 vaccinations ; et ce chiffre pourrait atteindre 150.000 lorsque nous serons en possessions des données de toutes les autres Provinces et dont, pour différentes raisons, les résultats nont pas encore pu être transmis.

Les informations recueillies jusqu'à présent concernent 43 Provinces éparses dans toute l'Italie et se rapportent à 135 Communes.

Province	Commune	Vaccinat. par injections	Rino-vaccination	Vaccinat. per cutanées	Totaux par Province
Alexandrie	Alexandrie.....	326	—	—	326
Aquila	Tione A.	27	—	—	27
Arezzo	S. Giovanni V.	34	—	—	34
Ascoli P.	Fermo	43	—	—	43
Bari	Corato	304	—	—	
	Molfetta	47	—	—	351
Bellune	Bellune	459	—	—	
	Arsie.....	244	—	—	

Province	Commune	Vaccinat. par injections	Rino-vaccination	Vaccinat. per cutanées	Totaux par Province
	Feltre	110	—	—	
	Castellavezzo	90	—	—	
	Perarolo	97	—	—	
	Sospirolo	150	—	—	
	Trichiana	300	—	—	1450
Bénévent	Piedimonte A.	30	—	—	30
Bergame	Bergame	300	—	—	300
Bologne	Bologne	611	—	57	
	Imola	66	—	—	
	S. Giovanni P.	249	—	—	
	Budrio	64	—	—	
	S. Giorgio P.	50	—	—	1097
Bolzano	Merano	90	—	—	
	Bressanone	293	—	—	383
Brescia	Brescia	208	—	—	208
Caltanissetta	Caltanissetta	229	—	—	
	Resuttana	300	—	—	
	S. Cataldo	20	—	—	549
Catane	Raddusa	70	—	—	
	Randazzo	90	—	—	160
Come	Grandate	162	—	—	
	Rovello	235	—	—	397
Cosenza	Acri	100	361	—	461
Cuneo	Mango	195	—	—	195
Florence	Florence	1216	—	—	1577
Forlì	Forlì	500	—	—	
	Rimini	232	—	—	
	Cesena	300	—	—	1032
Frosinone	Ausonia	400	—	—	
	Fiuggi	500	—	—	900
Gênes	Gênes	13000	—	—	
	Chiavari	288	—	—	
	S. Colombano C.	282	—	—	
	N. N.	150	—	—	
	S. Rufino L.	120	—	—	13840
Livourne	Piombino	55	—	—	55
Lucques	Lucques	—	578	—	
	Capannori	300	—	—	
	Viareggio	—	30	—	
	Coreglia	60	—	—	

Province	Commune	Vaccinat. par injections	Rhine-vaccination	Vaccinat. per-cutaneés	Totaux par Province
	Pietrasanta	37	—	—	1005
Mantoue	Mantoue	300	—	—	300
Massa et Carrare ..	Marina di Massa ...	120	—	—	
	Forno di Massa ...	35	—	—	155
Milan	Milan	648	1192	—	
	Vigevano	189	—	—	2029
Padoue	Padoue.....	547	63	—	
	S. Giorgio P.	20	—	—	
	Legnaro	5	—	—	
	Villafranca	558	—	—	
	Ponte S. Niccolò ...	4	—	—	
	Cervarese S. C.	75	—	—	
	Battaglia	112	—	—	
	Ponso	60	—	—	
	Migliarino S. F.	60	—	—	
	Pernumia.....	100	—	—	
	Teolo	5	—	—	
	Saletto	40	—	—	
	Anguillara	25	—	—	
	Selvazzano	24	—	—	
	Saonara	2	—	—	
	Cinto E.	5	—	—	
	Casale S.	67	—	—	
	Curtarolo	92	—	—	
	Campo S. Martino..	25	—	—	
	Cittadella.....	100	—	—	
	S. Margherita A. ...	29	—	—	
	Piacenza A.	108	—	—	
	Montagnana	146	—	—	2272
Palerme	Palerme	299	743	—	1042
Parme	Parme	28	—	—	
	Berceto	154	—	—	
	Fidenza	937	—	—	
	Salsomaggiore	394	—	—	
	Fornovotaro	75	—	—	1588
Pise	S. Bagni G.	50	—	—	50
Pola	Pola	254	—	—	
	Rovigno	76	101	—	431
Ravenne	Faenza	40	—	—	40
Rome (1929).....	Rome (1929).....	12000	4000	—	
(1930).....	(1930).....	6929	1947	—	24876
Rovigo	Ariano P.	182	—	—	182
Turin	Turin	1281	1511	—	2792

Province	Commune	Vaccinat. par injections	Rhine-vaccination	Vaccinat. per-cutanées	Totaux par Province
Trapani	Santa Ninfa	1506	—	—	1506
Trente	Trente	763	—	—	
	Miralago	79	—	—	
	Termeno	314	—	—	
	Aldeno	265	—	—	
	Giovo	260	—	—	
	Egna	260	—	—	
	Mezzocorona	750	—	—	
	Cortaccia	255	—	—	
	Levis	392	—	—	
	Zambana	180	—	—	
	Castel Tesino	492	—	—	
	Molveno	72	—	—	4072
Trieste	Tr este	380	6287	2	6569
Udine	Udine	29	—	—	
	Cividale	157	—	—	185
Varese	Varese	100	—	—	
	Busto Arsizo	800	—	—	
	Cardano al C.	—	500	—	
	Arcisate	80	—	—	
	Sesto Calende	500	—	—	1890
Venise	Venise	1792	—	—	
	Mirano	400	—	—	
	Noventa.....	576	—	—	
	Campolongo M.	40	—	—	
	Scorze	20	—	—	2828
Vercelli	Vercelli	—	274	—	
	Bioglio	8	9	—	
	Borgo Sesia	235	84	—	
	Biella	3	483	—	
	Candelo	3	11	—	
	Cavaglià.....	168	178	—	
	Coggiola	—	178	—	
	Crevacuore	129	46	—	
	Cigliano	—	38	—	
	Gattinara.....	1	30	—	
	Graglia	2	49	—	
	Occhieppo I.	1	—	—	
	Praj	150	21	—	
	Santhià	—	22	—	
	Villata	—	333	—	2270
Vérone	Vérone	70	21	—	91
Vicence	Vicence	400	—	—	
	Enego.....	351	—	—	751
Total général	.....	60941	19377	59	80377

En général les vaccinations ont eu un plus grand développement dans les Communes ou l'on a constaté des cas ou bien de petits foyers de diphtérie. Il eut été préférable de pouvoir faire les vaccinations à des époques normales, c'est-à-dire non pendant la période de l'infection déclarée; mais, toutefois, cette circonstance a été pour la vaccination l'épreuve dite du feu, attendu que tandis que, parmi les vaccines, en général, il n'y a pas eu de nouveaux cas et s'il en a eu, ils appartenaient à des formes légères pour la plupart; parmi les non vaccinés, au contraire, la morbidité et la mortalité ont marqué un léger accroissement.

Pour donner une plus grande valeur à l'efficacité des vaccinations antidiphtériques nous pouvons ajouter des faits et des épisodes bien précis, suivis attentivement et qui montrent comment l'intervention de ce moyen prophylactique peut rendre d'utiles services.

A ce propos il suffira de rappeler quelques épisodes vérifiés l'année écoulée dans la province de Trente, où par l'oeuvre active et vraiment louable du Médecin Provincial Prof. Dr. Weiss, dans dix communes de la Province il est parvenu à éteindre quelques foyers de diphtérie au moyen das vaccinations, en en faisant plus de 3.237 et en organisant un service de vaccination antidiphtérique sous son immédiate direction. Soit dit ici, en passant, que le résultat favorable de la lutte entreprise au moyen des vaccinations dépend, pour la plus grande part, de sa bonne organisation, ne négligeant par les moindres détails qui peuvent servir de guide. Par exemple en cette circonstance, on n'a pas omis le controle des résultats de la vaccination avec l'épreuve de Scick. laquelle a donné un pourcentage de 95% de résultats négatifs chez les vaccinés; en outre, en suivant les réactions vaccinales, on a pu vérifier que seulement 3% a présenté un mouvement fébrile jusqu'à un maximum de 38,2% qui disparut dans les 24 heures successives.

Une autre donnée intéressante et qui confirme l'utilité des vaccinations est le fait que, tout en ayant constaté des porteurs en action parmi les vaccinés, on n'a plus constaté aucun cas d'infection diphtérique, tandis que l'on n'a plus eu aucune reprise de la maladie jusqu'à ce jour.

Dans la province de Padoue où, en tout, ont été effectuées 2.272 vaccinations, dont 558 dans la commune de Villefranche, pas même un cas eut lieu parmi les vaccinés, tandis que l'on en a constaté encore parmi les non vaccinés; et même que les vaccinés venus en contacts occasionnels avec des malades de diphtérie restérent indemnes.

Il y eut de nombreux exemples vraiment louables de parents qui portèrent spontanément leurs enfants aux postes de vaccination; je citerai la population de Fiuggi qui a contribué efficacement avec 500 vaccinations à enrayer l'infection, dès les premiers cas.

Au nombre des provinces et des communes qui ont répondu avec

un véritable élan à l'appel qui leur fut adressé, doit être signalée Rome qui, en 1929-1930, a atteint 24.876 vaccinations. Malgré le grand nombre de vaccinations, on n'a pas constaté dé notables incidents, à l'exception de quelques réactions locales de peu d'importance qui, dans quelques cas très rares, ont retardé la continuation de l'application immunisante. Jusqu'à présent, parmi les vaccinés, n'ont été signalés que quelques cas d'infection diphtérique légère; seulement un enfant de 10 ans a présenté quelques temps après la vaccinations de la nécrose de la gorge avec enregistrement positif du bacille diphtérique; avec l'intervention de la sérothérapie on obtint la disparition du bacille spécifique, mais la nécrose augmenta et le résultat fut mortel.

Quant à l'organisation du service des vaccinations antidiphtériques, on peut affirmer que dans le plus grand nombre des communes, elles furent faites dans les asiles infantiles, dans les hôpitaux pour enfants, dans les hospices préventifs; dans les communes où cela n'a pas été possible ont été institués des postes permanents de vaccination antidiphtérique, soit auprès du Bureau d'Hygiène soit auprès de l'Hôpital.

Enfin, dans quelques cas, comme par exemple dans la province de Gênes, par Décret Préfectoral en date du 1er février 1930, ont été prises des dispositions pour rendre obligatoire la vaccination antidiphtérique dans les asiles, dans les collèges et dans les écoles pour tous les enfants de deux à quatorze ans. En outre on a prescrit le certificat de vaccination antidiphtérique pour ceux qui aspiraient à être recus dans les colonies marines et de montagne, temporairement. En confirmation de l'utilité de cette dernière disposition, il résulte du rapport du Bureau Sanitaire Provincial de Gênes que dans les colonies d'été temporaires, formés par des enfants envoyés par la Commune de Gênes, et par suite vaccinés, on n'a pas constaté de cas de diphtérie, tandis que quelques cas ont été signalés dans les colonies marines instituées dans la Commune de Gênes et constituées d'enfants, provenant d'autres régions et non vaccinés. En outre, tandis que pendant les années précédentes, lorsque la diphtérie apparaissait dans une institution elle ne causait que de légères endémies avec des poussées épidémiques, et cela malgré les plus énergiques mesures prophylactiques adoptées (isolement hospitalier, recherche de porteurs, désinfection) après quelques semaines du commencément de la vaccination antidiphtérique dans les institutions où s'était manifestée la diphtérie, celle-ci a cessé complètement, bien que l'on eut cessé, dans la suite, l'isolement rigoureux des porteurs.

Enfin, dans les institutions vaccinées, la diphtérie a fait de rares apparitions et, pour la plupart des cas, il s'agissait d'enfants non encore vaccinés parce que depuis peu accueillis dans les dites institutions.

Quant aux antigènes employés pour l'immunisation ce fut, princi-

palement, l'anatoxine de Ramon, préparée par nos trois plus grands instituts sérothérapiques et vaccinogènes, à savoir: par l'Istituto Sieroterapico Milanese, par l'Istituto Sieroterapico Nazionale de Naples et par l'Istituto Sieroterapico e Vaccinogeno Toscano de Sienne. Rarement on s'est servi de la toxine-antitoxine floculée de Schmidt et du vaccin percutané de Löwenstein.

L'anatoxine a été employée par injections, par rhinovaccination et par voie percutanée.

Les vaccinations effectuées jusqu'à présent et dont on a des annotations acceptables, en ce qui concerne la voie d'introduction de l'antigéne, peuvent être subdivisées comme suit: Total 80.377 dont 60.941 par injections: 19.377 par rhinovaccinations; 59 par voie percutanée.

Avant de terminer cette courte synthèse des résultats obtenus jusqu'à présent avec la vaccination antidiphtérique, il serait opportun de s'arrêter sur les complications qui auraient été constatées par certains observateurs et sur la complète innocuité voulue par d'autres.

Dans cette vaccination également comme dans toutes les autres où l'organisme est appelé à prendre une part active pour sa propre défense contre une infection déterminée, il réagit plus ou moins; cette réaction est également en rapport à l'état de santé dans lequel l'organisme se trouve. Quoique l'on conseille toujours de procéder aux vaccinations dans de parfaites conditions de santé, toutefois cet optimum désirable ne peut être toujours réalisé dans la pratique. Cela nous explique le pourcentage, même léger, du 2%-5% de vives réactions que l'on peut avoir à la suite des vaccinations.

Ces réactions qui peuvent varier considérablement: depuis la légère douleur et la rougeur passagères, au point d'inoculation, jusqu'à l'élévation thermique qui, dans le plus grand nombre des cas, atteint 37°,5 et qui rarement monte jusqu'à 39°,8, à la céphalée, l'insomnie, les douleurs articulaires, la nausée, le vomissement, l'angine, etc. tout en appelant notre attention, ne doivent pas être considérées comme un obstacle à l'application de vaccinations.

D'autre part il n'est pas encore entièrement prouvé si ces réactions sont dues à des altérations ou à des compositions anormales de l'anatoxine ou plutôt à des conditions particulières organiques: c'est-à-dire à des états d'hypersensibilité des vaccinés.

Les observations futures établiront si d'éventuels perfectionnements dans la technique de la préparation de l'antigène diphtérique diminueront ou élimineront entièrement ces inconvénients, ou s'ils persisteront malgré tous les perfectionnements de la technique, en tant qu'ils sont liés à une hypersensibilité spécifique.

Au perfectionnement de la technique de préparation de l'anatoxine

tend la Direction Générale de la Santé Publique qui a déjà porté son attention sur cet argument et surveille la production de l'anatoxine.

Dans la prochaine réunion du Conseil Supérieur de la Santé on discutera le contrôle obligatoire de l'Etat sur ce produit de la parte de son organe compétent le Laboratoire Bactériologique de la Direction Générale de la Santé Publique.

Nous voulons donc espérer qu'avec le perfectionnement de la technique de préparation, avec la plus grande expérience acquise par le personnel médical vaccinateur, spécialement en ce qui concerne l'opportunité du moment favorable à la vaccination, les inconvénients déplorés seront réduits au minimum.

En outre nous comptons beaucoup sur une plus grande compréhension de la part du public et spécialement des parents, sur la nécessité de recourir à la vaccination antidiphtérique qui, par les résultats obtenus jusqu'à présent, représente l'un des moyens les plus efficaces pour la prophylaxie de cette grave maladie.

Laboratoire de Micrographie ed de Bactériologie
de la Direction Générale de la Santé Publique.

CERRUTI CARLO F. – **Recherches sur l'immunisation du cobaye par l'anatoxine diphtérique.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'état d'hypersensibilité qui se revèle chez quelques individus par l'injection intradermique de toxine diphtérique chauffée à 75° C., pour 5′, ou d'anatoxine diphtérique, a été différemment interpreté dans sa signification clinique et biologique. Accepté d'abord comme un signe d'hypersensibilité aux protéines dérivées de la lyse du b. de Löoffler et du bouillon de culture, sans aucune signification d'immunité, il a été ensuite rapproché, par Zingher et d'autres auteurs, à ces formes particulières d'hypersensibilité bactérienne, ou, plus précisement, d'hypersensibilité à la tuberculine dans la tuberculose, à la malléine dans la morve, à la mélitine dans la fièvre ondulante.

Les données recueillies par Dudley au cours d'une épidémie de diphtérie, sont venues confirmer cette façon de penser, en démontrant qu'effectivement, la fréquence des contacts avec les diphtériques, fait augmenter le nombre des pseudo-réactions. Tout récemment les recherches de Zoeller ont mieux précisé les conditions qui determinent ,dans l'homme, l'apparition de cet état spécial allergique et les liens qui le rattachent

à l'immunité antidiphtérique. Selon cet auteur la réaction locale, que l'on observe au point d'inoculation intradermique de 2/10 de cc. d'une dilution 1% d'anatoxine, revèle non seulement une sensibilisation aux protéines du b. de Löeffler, mais encore un état allergique qui exprime une réaction d'immunité spécifique de l'organisme. La pseudoréaction que l'on obtient avec la toxine chauffée aurait la même signification, mais serait toutefois moins sensible, probablement parce que la concentration des protéines bactériennes est moindre.

J'ai fait, dans ces dernières années, quelques centaines d'épreuves de Schick et d'anatoxiréactions chez des enfants soumis à la vaccination par l'anatoxine, par voie sous-cutanée, et j'ai pu observer moi aussi que les réactions allergiques étaient relativement plus fréquentes et plus nombreuses parmi les enfants naturellement immunisés que parmi les réceptifs, et que leur nombre augmente progressivement avec l'âge; toutefois je ne me suis pas aperçu que la réalisation de l'immunité était régulièrement suivie par la sensibilisation de l'organisme vers les protéines du b. de Löeffler. La plupart des enfants que j'ai vaccinés ont acquis l'immunité sans manifester aucun signe de sensibilisation ou d'hypersensibilité.

Étant données les difficultés de toutes sortes, que l'on rencontre dans l'étude continue de ces phénomènes chez l'homme, j'ai essayé de rechercher, si le cobaye en s'immunisant contre la diphtérie par l'inoculation d'anatoxine, se sensibilise aussi vers le dérivés du bacille diphtérique contenus dans l'anatoxine même.

Ière. *Expérience.* — J'ai choisi un lot de 18 cobayes, de poids variable entro 300 et 700 grammes, de l'élevage de notre Institut, après leur avoir rasé soigneusement la peau de l'abdomen. Je leur ai fait les injections d'essai ci-après, dans l'épaisseur de la peau:

1) 1/50 de d. l. m. de toxine diphtérique ayant une d. l. m. de 1/500;

2) cc. 0,2 d'anatoxine diluée 1%;

3) cc. 0,2 du floculat isolé de la même toxine par abaissement à pH 4,7, après dissolution et neutralisation dans un volume d'eau égal au volume primitif de la toxine totale et diluition 1%;

4) cc. 0,2 du même floculat neutralisé après dissolution dans du bouillon Martin;

5) cc. 0,2 de la diluition 1 pour cent du liquide qui surnage après centrifugation de la toxine floculée;

6° cc. 0,2 d'une diluition 1 pour cent de bouillon Martin. La toxine diphtérique, les fractions diverses de cette toxine et le bouillon

Martin égal à celui qui avait servi à la préparation de la même toxine m'ont été donnés très obligeamment par le docteur Sédallian, de l'Institut Bactériologique de Lyon, déjà additionnés de 0,4 pour mille de formol du commerce (exceptée, bien entendu, une partie de la toxine qui a été employée telle quelle), et je les ai gardé, à 37° C. pendant un mois. Au moment de m'en servir, j'ai fait les dilutions nécessaires avec de l'eau physiologique et j'en ai injecté 0,2 cc. par voie intradermique. J'ai pu reconnaître ainsi que tous les cobayes étaient sensibles à la toxine diphtérique et deux (n. os 90-92) l'étaient aussi au bouillon et à l'anatoxine originale de l'Institut Pasteur de Paris. Presque tous presentèrent une réaction locale, avec rougeur et infiltration autour du point d'inoculation, disparue dans les 48 heures. Vingt-sept jours après je répétai les injections intradermiques d'anatoxine et bouillon. Quelques heures après je notai à l'endroit de l'inoculation tant de l'anatoxine que du bouillon, une aire de rouge avec une zone d'infiltration à peine perceptibles en 7 cobayes (n. os 26-28-58-61-71-90-92). Le jour suivant il n'y avait plus trace de cette réaction locale. Je pratiquai alors la deuxième injection vaccinante de 1 cc. d'anatoxine à chaque cobaye. Après 24 heures, presque tous les cobayes présentaient une réaction locale plus intense que celle relevée à la suite de la première injection vaccinante représentée par de la rougeur et une zone d'infiltration édémateuse, étendue autour du point d'inoculation pour un rayon de 2-4 cm. Cette réaction disparut au bout de deux jours. Vingt-un jours après je pratiquai, toujours avec les mêmes soins et précautions, l'injection intradermique d'anatoxine et bouillon Martin. Dans les 24 heures successives aucune réaction n'apparut à l'endroit de l'inoculation. J'injectai alors la troisième dose de 1 cc. d'anatoxine, qui produisit sur presque tous les animaux une réaction inflammatoire du même type que celle observée après les injections précédentes, peut-être légèrement plus marquée, qui se dissipa rapidement au bout de 48 h. J'ai attendu vingt-un jours après cette injection et j'ai pratiqué à nouveau l'intradermoréaction à l'anatoxine et au bouillon Martin, en même temps que la réaction de Schick. Les cobayes, examinés avec beaucoup d'attention quelques heures après et les jours successifs, ne présentèrent pas de réaction inflammatoire locale. Ils étaient donc immunisés et anergiques. Après douze jours de cette épreuve et trente-deux de la dernière injection immunisante je les soumis tous à une inoculation de contrôle de 10 d. l. m. sans remarquer aucune réaction locale ou générale.

Dans le tableau suivant je résume les résultats des intradermoréactions effectuées pendant le cours de l'immunisation des cobayes.

RÉACTIONS D'HYPERSENSIBILITÉ AU COURS DE L'IMMUNISATION ANTIDIPHTÉRIQUE DU COBAYE.

Cobayes inoculés	Réaction de Schick	Anatoxi-réaction	Bouillon Martin	Floculat + eau	Floculat + bouillon	Liquide surnageant	Inocul. de contrôle de 10 d. l. m.
N. 26	+ O	O ± O O	O ± O O	O	O	O	survit
» 28	+ O	O ± O O	O ± O O	O	O	O	»
» 47	+ O	O	O	±	O	O	»
» 56	+ O	O O O O	O O O O	O	O	O	»
» 58	+ O	O ± O O	O ± O O	O	O	O	»
» 61	± O	O ± O O	O ± O O	O	O	O	»
» 71	+ O	O ± O O	O ± O O	O	O	O	»
» 73	+ O	O O O O	O O O O	±	O	O	»
» 78	+ O	O O O O	O O O O	O	O	O	»
» 79	+ O	O O O O	O O O O	O	O	O	»
» 86	+ O	O O O O	O O O O	O	O	O	»
» 87	+ O	O	O	O	O	O	
» 88	+ O	O O O O	O O O O	O	O	O	»
» 90	+ O	± ± O O	± ± O O	O	O	O	»
» 92	+ O	+ ± O O	+ ± O O	O	O	O	»
» 96	+ O	O O O O	O O O O	O	O	O	»
» 97	+ O	O O O O	O O O O	O	O	O	»
» 98	+ O	O O O O	O O O O	±	O	O	»

IIème. — *Expérience.* — Un lot de 6 cobayes, presque tous du même poids (250-370 grm.), a été inoculé régulièrment tous les jours, sauf 24 h. de repos tous les sept jours, avec 0,5 cc. d'anatoxine diphtérique. Après la 51ème injection, effectuée comme les précedentes sans noter aucune réaction particulière, je laissai aux cobayes dix jours de repos, et tout de suite après je pratiquai la 52ème inoculation de 0,5 cc. d'anatoxine, sans provoquer aucun trouble. Dix autres jours après j'inoculai à chaque, cobaye 20 d. l. m. de toxine, qui ont été parfaitement tolerées. Sept jours après je pratiquai l'anatoxiréaction sans déterminer aucune réaction ni locale, ni génerale.

L'inoculation d'anatoxine, c'est à dire des produits solubles du b. de Löeffler et de son bouillon de culture avec la toxine spécifique modifiée par l'action combinée de la chaleur et du formol, n'a pas determiné dans le cobaye, dans mes conditions d'expérience, un état d'allergie, mais une franche immunité.

Les données tirées des réactions de Schick et des pseudo- ou anatoxiréactions effectuées dans les collectivités infantiles portent à penser que l'action sensibilisante des contacts inaperçus avec le b. de Löeffler, que l'on suppose à l'origine de l'apparition spontanée de l'immunité chez les réceptifs, n'est pas aussi fréquente qu'on pourrait le croire et en tout cas bien moindre que celle des contacts avec le b. de Koch, le *B. mallei* ou *Brucella melitensis.*

Pour déterminer avec précision l'action sensibilisatrice du b. de Löeffler et distinguer si possible, ce qui est dû à un veritable état allergique produit par l'infection, de ce qui dépend d'une simple hypersensibilité aux produits thermostables du même microbe, il faudra faire d'autres recherches. On pourra les faire très difficilement sur l'homme, et bien qu'il ne soit pas toujours possible de reporter à l'homme ce que l'on observe dans une espèce animale quelconque, il faudra forcement recourir au cobaye. L'inoculation de bacilles diphtériques atoxiques et très peu virulents, d'anatoxine telle quelle, ou chauffée à 100° C., pour 5′, à doses minimes et judicieusement espacées, etc., pourra servir à augmenter nos connaissances sur une question qui, en plus du très grand interêt scientifique, présente celui non moins important et pratique de la prophylaxie de la diphtérie.

Institut d'Hygiène de l'Université Royale de Turin.

CERRUTI CARLO F. – **Sur la durée de l'immunité acquise par l'anatoxine diphtérique.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'immunisation antidiphtérique, artificielle, active, obtenue par l'injection sous-cutanée de 3 cc. d'anatoxine de Ramon a été accueillie avec beaucoup de faveur par les médecins et les hygiénistes et elle tend à se généraliser aussi chez nous, pour un nombre toujours plus grand d'enfants, grâce à l'appui et à l'intense propagande des Autorités sanitaires de nôtre Pays.

La valeur de l'immunité obtenue par cette vaccination est réelle et elle est prouvée: par le pourcentage très élevé (85-98%) d'enfants qui presentent une réaction de Schick négative à la suite de la vaccination; par l'élevation du taux de l'antitoxine dans le sang des vaccinés; par le nombre très faible des cas de diphtérie survenus parmi les immunisés; par la benignité de la maladie lorsqu'elle survient, très exceptionnellement cependant, chez des vaccinés.

Pour compléter nos connaissances sur la nature de l'immunité réalisée par l'anatoxine diphtérique il est necessaire d'établir maintenant la durée de cet état d'immunité. On sait bien, grâce aux données épidémiologiques et à la réaction de Schick pratiquée sur un grand nombre d'individus de tout âge et de toute classe sociale, qu'une atteinte de diphtérie immunise généralement pour le restant de l'existence, et que la plus grand partie des hommes s'immunise naturellement sans même s'en

apercevoir, et presque toujours dans l'enfance, contre cette toxi-infection, par simple contact avec des porteurs ou des malades diphtériques. L'immunité naturelle acquise par ce procédé d'immunisation occulté paraît se conserver pendant toute la vie de l'individu et l'on est autorisé à croire que les mêmes causes ou influences agissent dans le même sens sur l'état d'immunité produit par la vaccination.

Les très nombreuses vaccinations effectuées avec l'anatoxine datent de trop peu de temps pour pouvoir émettre un jugement définitif sur la question de la durée de l'immunité. Certains auteurs, parmi lesquels Lereboullet et Joannon, L. Martin, Loiseau et Laffaille, examinant des enfants, Schick positifs, vaccinés depuis 2 ans par 3 injections d'anatoxine, ont trouvé que la réaction de Schick restait négative. Les mêmes auteurs, parmi 122 enfants chez qui la réaction de Schick était devenue négative, après la deuxième injection d'anatoxine, ont vu que la plupart présentaient encore une r. de Schick négative après 5 ans. M. et G. Mozer à l'Hôpital Marin de Berck, ont eu presque les mêmes résultats. Chez nous Ronchi en faisant des essais-contrôles avec la r. de Schick sur 27 enfants vaccinés par l'anatoxine, il y a 5 ans, trouve que 23 présentent encore épreuve de Schick négative. Récemment Bosco contrôla 10 enfants immunisés par l'anatoxine 4 ans auparavant: 6 présentaient encore une r. Schick négative.

Pendant l'été 1927, j'ai immunisé, avec l'aide du Dr. Madon, 77 enfants receptifs à la diphtérie, qui appartenaient à des colonies prophylactiques antituberculeuses patronées par la Ville de Turin, et par des oeuvres privées, au moyen de deux injections (0,5-1 cc.) d'anatoxine diphtérique originale, faites à 3-4 semaines d'intervalle. La réaction de Schick pratiquée un mois après la dernière injection, avait été négative chez 66 des enfants inoculés. On pratiqua alors une troisième injection de 1,5 cc. d'anatoxine aux 11 enfants demeurés receptifs.

L'année passée j'ai eu occasion de contrôler l'immunisation des enfants vaccinés, bien que la plupart d'entre eux avaient abandonné les colonies et qu'on ne put les retrouver. Il y en avait encore cependant 29, qui avait passé l'intervalle de 30 mois toujours dans le milieu des colonies, tout en frequentant de nouveaux camarades et en allant aux écoles publiques. J'ai pratiqué sur eux, en même temps la r. de Schick et l'anatoxiréaction de Zoeller: la première avec de la toxine de l'I. S. M., la deuxième avec de l'anatoxine originale de l'Institut Pasteur de Paris. Je réunis ici les résultats obtenus par les deux épreuves:

	Garçons	Filles	Total
Réaction de Schick:			
positives	—	5	5
négatives	8	16	24
Anatoxiréactions de Zoeller:			
positives	2	4	6
négatives	6	17	23

Sur 29 enfants, entre 5 et 13 ans, vaccinés par l'anatoxine, 5 avaient donc perdu l'immunité après 30 mois de l'immunisation.

Avec ces résultats, et me rappelent les objections faites à la réaction de Schick et surtout les discussions tout à fait récentes (Pauli) sur le choix de la toxine à employer pour cette épreuve, j'ai cru bien faire de répéter les réactions avec une toxine de provénance diverse. J'ai choisi à cet effet une toxine de l'Institut Bactériologique de Lyon, avec une d. l. m., contrôlée par moi, de cc. 0,002, et six mois après, j'ai répété les réactions. Il faut toutefois se rappeler que pendant cet intervalle 3 des 5 filles reconnues receptives, avaient été en contact avec un enfant qui presentait une angine diphtérique très grave, et traitées en conséquence par la sérothérapie, et successivement vaccinées par voie nasale avec 7 insufflations d'anatoxine de l'I. S. M., séparées par un jour d'intervalle.

Le contrôle de la receptivité de ces enfants a été pratiqué un mois après ces interventions prophylactiques. Il faut encore se rappeler que parmi ces 5 filles, 2 avaient reçu en 1927 seulement deux injections d'anatoxine, mais les autres trois avaient été inoculées par trois injections d'anatoxine, parce qu'elles avaient conservé une réaction de Schick positive après deux inoculations.

Le tableau ci-dessus résume les résultats des réactions de receptivité et d'allergie appliquées à 6 mois d'intervalle:

Vaccinés par	I.ère Expérience		Sérum + Rinovacc.		II.ème Expérience	
	Schick	Anatoxir			Schick	Anatoxir.
2 injections:						
M. R., 13 ans	+	—			+	—
P. G., 11 »	+	—			±	—
3 injections:						
L. C., 9 ans	+	—	+	+	+	—
T. L., 10 »	+	—	+	+	—	+
A. T., 6 »	+	—	+	+	—	+

On peut remarquer, en se reportant au tableau, que le nombre des receptifs s'est reduit de 5 à 3, et l'un parmi d'eux (P. G.) présente une r. de Schick attenuée. Ce changement de susceptibilité, est-il seulement apparent et faut-il le rechercher dans la diversité des toxines employées, ou, au contraire, faut-il admettre qu'il y a eu une augmentation réelle du pouvoir antitoxique spécifique? Je suis d'avis que la deuxième hypothèse répond mieux au faits observés, parce qu'elle est renforcée par le fait que nous avons, en premier lieu, un facteur d'immunisation certain, représenté par la rhino-vaccination qui a été effectuée, et en second lieu, celui determiné par le contact avec un malade de diphtérie qui aura certainement semé des bacilles de Löeffler dans le milieu ambiant, en provoquant dans les organismes prédisposés un reveil de l'immunité spécifique.

L'étude approfondie de ces cas se prêterait à beaucoup de consideration que je me reserve d'exposer à une prochaine occasion. Je désire seulement aujourd'hui, faire relever que si l'anatoxine represente un moyen très efficace d'immunisation contre la diphtérie il faut cependant se rappeler que l'immunité crée par elle, ne dure pas toute la vie, et qu'on ne peut, pas non plus, se fier complètement à la soi-disante «immunisation occulte» pour l'entretenir à un degré suffisant. La prophylaxie de la diphtérie ne se reduit pas à une unique vaccination spécifique des enfants exposés à la contagion; dans quelques cas, une minorité sans doute, l'immunité avec le temps, deux-trois ans, finit par s'atténuer jusqu'à ne plus présenter une barrière efficace aux assauts du b. de Löeffler, et l'on doit alors avoir recours à d'autres vaccinations par voie sous-cutanée, ou simplement par voie nasale pour entretenir l'immunité conferée par la première vaccination.

Institut d'Hygiène de l'Université Royale de Turin.

BROTZU G. et ARTUSI C. – **Recherches sur l'immunisation active contre la poliomyélite antérieure aigue** (1).

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'immunité passive contre la poliomyélite antérieure aiguë peut être un moyen de défense très utile dans la prophylaxie de cette maladie qui tend à produire des épidémies toujours plus menaçantes.

Les méthodes de préparation du vaccin proposées par plusieurs AA.

---

(1) Ces recherches ont pu être faites grâce à un subside concédé par la « Direzione Generale di Sanità » à laquelle nous tenons à exprimer encore ici notre reconnaissance.

sont assez nombreuses. Je rappellerai, entr'autres, celle semblable à la méthode de Pasteur pour la vaccination contre la rage, qui utilise le moelles séchées, celle du virus chauffé à une température entre 50° et 60°, celle qui se sert des émulsions de moelle traitées avec de l'acide fénique ou bien sensibilisées avec du sérum immunisé, ou même seulement diluées. Les résultats que ces différentes méthodes ont fourni ne sont point définitifs et il semble que l'immunisation contre la poliomyélite puisse être obtenue en se servant de virus vivants simplement atténués ou bien dilués. Le vaccin proposé par Romer et Joseph, et qui est chauffé à 50°-60°, ne serait, d'après Levaditi, qu'un vaccin simplement dilué, où ils ne vivent que de petites quantités du virus à cause de la température à laquelle il a été traité.

Kraus, depuis 1911, s'est servi de la méthode au fénol. Dans le mémoire original, cet A., qui dernièrement a repris ces études et a confirmé ses résultats précédents, affirme que les émulsions de moelle poliomyélitique au 5% dans de la solution physiologique, filtrèes sur du papier et traitées avec du fénol à l'1% ou à l'1,5%, perdent leur virulence en 5 jours et peuvent très bien servir pour provoquer l'immunité en les inoculant par voie sous-cutanée à la dose de 10 cc.

Landsteiner et Levaditi, en se servant de virus maintenus pendant 3 jours à la température d'une glacière, et auxquels on avait ajouté de l'acide fénique au 0,5%, n'ont obtenu aucune immunité pour un cas, car l'animal inoculé 12 jours après avec du virus récent fut frappé de poliomyelite et succomba; cette vaccination, dans un autre cas, donna lieu à una poliomyélite dont l'incubation dura 13 jours.

Le virus traité pendant 3 jours avec de l'acide fénique ne doit pas être considéré mort mais seulement atténué et incapable de produire l'immunité en certains cas.

Ces expériences n'ont point été faites en suivant la technique proposée par Kraus: il nous a semblé intéressant de contrôler la méthode de cet A. en suivant les détails décrits dans le mémoire original.

Nous avons donc préparé du vaccin en émulsionnant au 5%, dans de la solution physiologique, de la moelle de singe mort de poliomyélite; après avoir filtré l'emulsion sur du papier on y ajoutait l'1% de fénol. Deux singes (Macacus Rhesus) furent inoculés; au premier on injecta de l'émulsion 5 jours après l'avoir préparée, et à l'autre 7 jours après.

Le premier, au bout de 5 jours tomba malade de poliomyelite et succomba au 10ème jours, tandis que le second survécut et on lui inocula, 12 jours après, du virus par voie nasale (on se servit de la voie nasale pour eviter une infection massive qu'il est facile de produire par la voie cérébrale). Cet animal tomba aussi malade et mourut sans qu'il fut possible de constater aucun signe d'immunisation.

D'après ces expériences il semble que le virus dont nous disposons, après avoir subi un traitement au fénol à l'1% pendant 7 jours est altéré de façon à perdre tout pouvoir d'immunisation .

En conséquence les expériences successives ont été faites avec une quantité d'acide fénique inférieure.

Le nouveau vaccin fut préparé de la même façon, en filtrant sur du papier une émulsion de moelle au 5% et en ajoutant la liqueur en parties égales avec une solution de fénol à l'1% (il en résultait donc, pour le fénol, une concentration du 0,5). Le vaccin fut inoculé en doses de 10 cc., à deux singes, sept et neuf jours, respectivement, après avoir été préparé. Le premier animal mourut de poliomyélite, tandis que le second survécut sans manifester aucun symptôme: ayant été traité, trente jours après, par voie nasale avec du virus virulent, cet animal ne tomba point malade, tandis que le contrôle inoculé, par la même voie en même temps, mourut de poliomyelite onze jours après.

Le vaccin au fénol au 0,5%, de 9 jours, pouvait donc provoquer un etat d'immunité suffisant pour résister à une infection par voie nasale. Ce résultat était très encourageant, mais il était en outre nécessaire d'approfondir plusieurs questions très intéressantes. La plus importante était d'établir si ce vaccin contenait encore le virus vivant et virulent. Pour résoudre ce problème-après avoir confirmé avec de nouvelles expériences la valeur immunisante du vaccin inoculé, par voie sous-cutanée, neuf et onze jours après avoir été préparé — on inocula à des singes, sous les méninges et par voie intra-peritoneale, la liqueur obtenue en centrifugeant 20 cc. à peu près de ce vaccin .Les animaux traités de cette façon moururent de poliomyélite: on doit donc en déduire que le virus se trouve simplement atténué dans ce vaccin ou bien tellement raréfié et en de quantités tellement petites qu'il ne peut plus provoquer l'infection lorsqu'il est introduit par voie sous-cutanée (1).

D'autrès expériences ont ensuite démontré que le virus se maintient virulent (par voie intra-cranienne) pendant longtemps, lorsqu'il est conservé dans un ambiant au fénol au 0,5%: la virulence ne tend à diminuer qu'après 40 jours, mais il provoque toujours une maladie mortelle, bien que son evolution soit plus lente.

---

(1) D'après Stewart et Roads l'inoculation par voie sous-cutanée de 1,5 ou de 2 cc. d'émulsion de virus au 5% conservée dans de la glycérine peut donner lieu à un état d'immunisation stable, dans les singes, par rapport à l'inoculation intra-cérébrale.

Fénol %	Contact avec le fénol	Température	Quantité inoculée	Voie	Résultat	Inoculation d'essai	Voie	Résultat
	jours							
1	5	4°	10 cc.	sous-cutanée	+ poliom.	—	—	—
1	7	»	»	»	—	aprés 12 jours	nasale	+ poliom.
0.5	7	»	»	»	+ idem	—	—	—
0.5	9	»	»	»	vit	aprés 30 jours	—	survit
0.5	11	»	»	»	»	après 25 jours	—	»
0.5	9	»	centrifugé 20 cc.	intra-cranienne et intra-périt.	+ poliom.	—	—	—
0.5	9	»	20 cc.	»	»	—	—	—
0.5	11	»	»	»	»	—	—	—
0.5	14	»	»	»	»	—	—	—
0.5	25	»	»	»	»	—	—	—
0.5	40	»	»	»	cours lent	—	—	—

Ces expériences nous permettent d'affirmer que notre virus poliomyélitique (1) peut donner lieu, dans les singes, à une immunisation active en pratiquant la vaccination comme, nous l'avons dit plus haut: il est aussi démontré que l'atténuation que l'on obtient par un traitement au fénol de 9-10 jours, n'est pas suffisante pour rendre le virus parfaitement inactif lorsqu'il est inoculé par les voies les plus sensibles, en doses plutôt fortes.

Et il est encore démontré, qu'en insistant sur le traitement on peut ob tenir un degré d'atténuation du virus plus prononcé: mais, même en ce cas, il n'est pas sûr que la méthode dont ou s'est servi peut être employée pratiquement pour vacciner l'homme. Il faudrait, avant tout, exclure que le virus atténué est dangereux pour des sujets particuliérement réceptifs, et que des formes de maladies plus graves peuvent se développer par contagion, après un certain nombre de passages; ces formes de maladie seraient produites par des infections, même légères, qui auraient atteint les sujets vaccinés.

(1) Il est aussi possible qu'il existe, entre les différents virus des différences de comportement vers le fénol et vers les autres substances aptes à les tuer: ces différences pourraient nous donner l'explication des différents résultats obtenus par les AA.

BROTZU G. – **Valeur des réactions floculantes dans la diagnose de la malaria.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Les recherches sérologiques n'ont pas encore été beaucoup appliquées au diagnostic du paludisme. Le grand nombre d'essais qui ont été faits pour utiliser la réaction de la déviation du complément n'ont jamais donné de bons résultats. Il est probable que ces insuccès soient dus au

fait que l'on'a jamais suivi une méthode qui permette d'avoir un antigène vraiment spécifique. Les AA. qui ont fait les expériences se sont en effet servis des antigènes que l'on emploie pour la réaction de Wassermann, ou bien des extraits d'organes d'individus atteints de paludisme (sang, rate, foie, riches en parasites). Dans les formes aiguës certains AA. ont obtenu des résultats assez brillants (De Blasi a eut le 51% de réactions positives), mais dans les formes chroniques ce n'a pas été la même chose: les autres réactions floculantes employées pour le diagnostic de la syphilis n'ont eu, de même, aucun succès. Ces applications pratiques ne sont point utilisées, car pour le diagnostic du paludisme on dispose d'une autre méthode infiniment plus importante, c'est-à-dire de la recherche du parasite dans le sang circulant. L'examen sur les stries et sur les gouttes épaisses fournit, en général, le moyen pour résoudre un doute quelconque en peu de temps et sans difficultés. La précision de cette méthode est si grande que les cas ou l'on a un résultat négatif, dans les formes aiguës doivent être considérés comme exceptionnels.

Ces faits sont exacts dans les cas de paludisme aigu; mais tout le monde connait les difficultés que l'on rencontre pour les diagnoses microscopiques des cas de malaria secondaire et tertiaire. Pour ces formes les parasites ne sont présents que d'une façon irrégulière et en petites quantités dans le sang circulant. Tous les moyens que l'on a proposés pour favoriser l'immission dans la circulation des parasites fixés sur les organes intérieurs (administration d'adrénaline, de tuberculine, de composés de fer, surmenage physique, bains, etc.) ne permettent pas, en beaucoup de cas, d'etablir une diagnose microscopique. Pour ces cas le diagnostic ne peut se fonder que sur l'examen sémiologique et sur l'anamnèse. Ceci, naturellement, a une influence sur la thérapie et la prophylaxie; sur la thérapie, par le fait que les formes atypiques du paludisme chronique peuvent provoquer des erreurs diagnostiques en faussant la cure, et sur la prophylaxie qui ne peut éliminer à temps les foyers de l'infection à cause de l'impossibilité de découvrir le virus qui se trouve sous una forme latente.

Les réactions de floculation proposées par Henry à ce propos, présentent donc un grand intérêt. En se basant sur l'hypothèse que dans un sujet frappé de paludisme il se forment des anticorps contre les antigènes, que le cycle vital du parasite produit dans l'organisme, cet A. a pensé de se rendre compte si le sérum des sujets atteints de malaria réagit avec les pigments du plasmode.

On sait qu'il y a deux pigments du parasite de la malaria: se sont les pigments mélanines (qui sont en général présentes dans d'autre parties de l'organisme humain), et le pigment ocre qui est riche en fer.

Il n'est pas possible d'obtenir des antigènes formés précisément par ces deux pigments et Henry a eu recours à un pigment mélanique obtenu de la choroïde, et à des composés de fer (méthylarsinate de fer et albuminate de fer).

L'antigène mélanique peut être préparé de la façon suivante: on racle une choroïde en recueillant la liqueur gélatineuse qui contient le pigment et, après l'avoir triturée soigneusement, on y ajoute du formol 1:200; on filtre ensuite sur de la laine de verre.

La liqueur noirâtre obtenue de cette façon est centrifugée pendant 8 minutes à 4000 tours; on décante la partie supérieure du liquide, et on la conserve dans des récipients stériles en glacière. La solution de méthylarsinate de fer est préparée par la Maison Bouty et on s'en sert en la diluant à 1 : 9.

Pour préparer l'albuminate de fer on emploie la méthode suivante. On dissout 1 gr. d'albuminate de fer » Merck » dans 600 cc. d'eau bidistillée, et on verse la liqueur dans des fioles de verre neutre qui sont ensuite stérilisées à 100° pendant 4 jours.

Le résultats qu'Henry a obtenus pouvent être résumés de la façon suivante.

Dans les cas de paludisme aigu primitif ou secondaire, et pour les formes chroniques chez des sujets dont les conditions générales sont mauvaises, la réaction est généralement positive tandis qu'elle est négative pour les individus en de bonnes condition générales et pour les individus non atteints de paludisme.

B. Le Bourdellès, R. Liègeois, Abrami et Rodillon ont confirmé ces résultats dont l'intérêt est remarquable.

En Italie Sabatucci a fait des recherches dans ce sens en examinant, avec le Métharfer, 10 sérums d'individus atteints de paludisme et en obtenant six réactions positives. Les résultats obtenus par les AA. sont en général favorables, bien qu'on ne possède pas de données suffisantes pour se prononcer sur la valeur de cette réaction pendant les périodes entr'une récidive et l'autre, lorsque les parasites présents dans la circulation sont en petit nombre ou lorsqu'il n'y en a pas du tout.

Ce fait, qui me semble très important, n'a pas encore été assez étudié. En faisant ces recherches j'ai voulu, avant tout, établir par des essais préliminaires, quelques modifications pour rendre la réaction plus sensible et pour en faciliter l'exécution. Les antigènes dont je me suis servi ont été: le Métharfer Bouty, l'albuminate de fer, l'antigène choroïdien de l'homme, le noir de sépia. L'antigène choroïdien humain, préparé en suivant la méthode d'Henry, me semble devoir présenter une sensibilité plus prononcée, car l'origine est la même; le noir de sépia devrait être

très facile à préparer et devrait donner des solution plus stables et homogènes.

Ces antigènes, opportunément dilués (le noir de sépia doit être dilué au point d'obtenir une solution brune et limpide), etaient mis en contact avec 0,1-0,2 cc. de sérum pour 0,9-0,8 cc. de réactif; pour les contrôles on se servait de sérum (0,2 cc.) et d'eau distillée ou bien d'une solution de formol à l' 1 : 2400 (0,8 cc.).

Lorsqu'on a une précipitation dans les contrôles, on refait l'expérience en ajoutant 0,20 cc. de solution physiologique au 0,85% pour stabiliser le sérum.

On avait choisi des sujets accusant des accès de fièvre, et d'autres qui n'en souffraient point, pour les quels, les expérieuces sur les parasites avaient été positives et negatives, et en outre des individus encore en cure, d'autres qui l'avaient déjà finie et enfin des sujets atteints d'autres maladies.

Les résultats sont relatés dans le schéma suivant.

D'après ces recherches nous pouvons affirmer que:

1) Les réactions floculantes se manifestent rapidement aux premiers accès dans la forme estivo-automnale, dans la fièvre tiertiaire et dans la fièvre quaternaire.

2) La réaction est quelques fois négative pendant la fièvre.

3) La réaction est aussi positive sur des sujets n'ayant pas d'accès fébriles avec ou sans parasites dans la circulation.

4) La réaction continue à être positive pendant un certain temps pendant la cure et, en certains cas, même après.

5) La réaction avec l'antigène choroïdien et avec le noir de sépia est plus sensible que celle au métharfer et à l'albuminate de fer.

Ces études seront continuées et on tâchera d'etablir quel est le pourcentage nécessaire pour conserver cette réaction positive pendant la période hivernale chez des sujets non guéris, qui, au printemps successif, tomberont en récidive, en espérant d'arriver de cette façon à une méthode pratique de prophylaxie du paludisme (1).

---

(1) Afin de mettre cette réaction à la portée de la pratique prophylactique, j'ai voulu voir si la réaction avec l'antigène choroïdien peut être faite avec quelques gouttes de sang, comme on pourrait le faire pratiquement. Le sang a été prélevé aux capillaires du bout charnu des doigts et au lobule de l'oreille. Les résultats ont été favorables, comme pour les expériences faites avec une quantité de sérum plus grande, et la lecture ne présente aucune difficulté sérieuse.

NOM	Forme de la maladie	État de la maladie	Recherche des parasites	Sépia	Choroïde	Méthylarsinate de fer	Albuminate de fer
F.	F. tièrciaire	Sans accès depuis 15 jours	sang +	+	+	+	—
B.	»	Après 1 accès	» +	—	+	—	—
P.	»	Après 2 accès	» +	+	+	+	+
P.	»	Sans accès depuis 20 jours	» +	—	+	—	—
D. E.	»	Après 3 accès	» +	+	+	—	—
D. E.	»	Sans accès depuis 7 jours	» +	+	+	—	+
B.	»	Après 10 accès	» +	+	+	+	+
B.	»	Après 20 jours sans fièvre	» +	+	+	—	
B.	»	Après 40 jours sans fièvre	» —	+	+	—	—
M.	»	Sans fièvre depuis 7 jours	» +	+	+	+	
M.	»	Sans fièvre depuis 12 jours	» +	+	+	—	—
S.	»	Pendant l'accès	» +	+	+	—	
S.	»	Sans accès depuis 30 jours	» +	+	+	+	
S.	»	Pendant la cure	» —	+	+	+	
C.	»	Après 10 accès	» +	+	+	+	
P.	»	Après 10 accès	» +	+	+	—	
C.	»	Après 10 accès	» +	+	+	—	
N.	»	Après 1 accès	» +	+	+	—	—
N.	»	Après 4 accès	» +	—	—	—	—
N.	»	Après 7 accès	» +	+	+	+	+
M.	»	Récidive	» +	+	+	+	—
C.	»	7 jours de cure	» —	+	+	+	+
C.	»	Après 3 accès	» +	—	+	+	—
C.	Est. autom.	Après 7 accès	» +	—	—	—	
C.	» »	10 jours de fièvre	» +	+	+	+	
C.	» »	Après 1 accès	» +	—	—	—	
B.	» »	Sans fièvre depuis 25 jours	ganates	+	+	—	
C.	» »	Sans fièvre depuis 35 jours	»	+	+	+	—
C.	» »	A cure finie	sang —	—	—	—	—
P.	» »	Après 15 accès	» +	+	+	+	—
L.	F. quaternaire	Après 10 accès	» +	+	+	+	+
L.	»	Cure finie	» —	+	+	—	—
M.	»	Après 21 accès	» +	+	+	+	+
M.	»	En cure	» —	—	+	—	—
G.	»	11 accès	» +	+	+	—	—
F.	»	Fièvre rémittante	» —	+	+	—	—
S.	»	Anémie splénique probablement produite par paludisme	» —	+	+	—	+
M. N.	Ondulante			—	—	—	
A. L.	Tuberculose			—	—	—	
R. V.	Miocardite			—	—	—	
A. M.	Entérocolite			—	—	—	
Ca.	Syphilis			—	—	—	
Tr.	»			—	—	—	
Ch.	»			—	—	—	
St.	Typhus abd.			—	—	—	
Car. A.	Carc. gastrique			—	—	—	
Fe. G.	Paratyphus			—	—	—	
San. C.	Blennorragie			—	—	—	
Sp.	Malaria ?		sang —	—	—	—	
Gr.	» ?	Il y a 10 ans et pendant 3 ans	» —	—	—	—	

CANTANI ARNALDO – **Effets thérapéutiques des lacto-vaccins anti-typhiques et anti-mélitensis.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Les raisons qui ont produit, chez la plupart des médecins, un discrédit et un scepticisme par rapport aux effets de la vaccination, peuvent être reconnues avec facilité; en réalité, tout en admettant la vérité des constatations nombreuses que l'on a fait dans la pratique, sur l'effet faible ou négatif de ces vaccins, on ne peut nier toute valeur à la vaccinothérapie. Il faut seulement rechercher les causes de cette inactivité, causes qui consistent surtout dans la faible virulence des bactéries employées pour la préparation de ces vaccins, aussi bien que dans l'identité non tout à fait parfaite de la souche employée pour la préparation du vaccin avec la souche de l'agent-étiologique de la maladie dont le patient est atteint.

C'est un fait connu par tout le monde et qui n'a pas besoin d'autres éclaircissements, le défaut de virulence des germes cultivés artificiellement dans les laboratoires, bien souvent pendant une longue série d'années. De même on n'a pas à insister sur la date de préparation du vaccin. Ce qui, au contraire, est digne d'être remarqué, ce sont, pour ainsi dire, les nombreuses différences de race entre deux souches de la même maladie. Il faut rappeler, à ce propos, qu'on a constaté récemment des différences dans le pouvoir de fermentation de la xilose même chez les souches de cultures caractéristiques du typhus, tandis que, par ex, le nombre des différentes souches du dyplococcus, qui est le véritable agent de la pneumonie, est toujours en train de se multiplier, surtout grâce à l'Ecole américaine.

Les points de repère pour la préparation de vaccins actifs sont donc, à grands traits, les suivants: 1) avoir toujours à sa disposition des souches isolées *in situ* et depuis peu de temps; 2) pouvoir employer directement chez le malade sa souche, dans le but de la vaccination; 3) pouvoir en garder la virulence inaltérée, car, comme on sait, elle se perd rapidement dans les laboratoires. Il faut donc se servir de méthodes bien choisies et qu'on puisse employer facilement, soit pour l'isolement des germes que pour la conservation de leur virulence: c'est ce que nous exposerons brièvement ici, en y ajoutant aussi un système que nous avons adopté pour renforcer l'action vaccinante. Toutefois nous avons pensé, après avoir constaté par des résultats excellents l'action de ces vaccins renforcés, d'en modérer l'action pour empêcher les réactions qu'ils provoquaient, réactions qui, tout en prouvant une fois encore l'efficacité, présentent néanmoins des inconvénients et des dangers qu'il faut éviter.

Nous commencerons à énumérer ordonnément et en résumé ces méthodes que nous avons trouveés, car elles ont été déjà communiquées dans plusieurs publications et en des Congrès, parmi, lesquels il y a ceux de Microbiologie qui eurent lieu à Milan et à Paris.

Avant tout, pour l'isolement du bacille du typhus du sang des malades, nous employons un milieu nutrif particulier, préparé en additionnant l'agar du glycérolé d'excréments, pour avoir un milieu d'enrichissement. Mais nous isolons aussi le bacille du typhus des excréments, moyennant un milieu nutritif obtenu en ajoutant de la tripaflavine à l'agar. Au cours des dernières expériences suivant notre méthode, nous avons employé, àfin de pouvoir accélerer la préparation des autovaccins avec des résultats assez satisfaisants, la culture directément préparée dans le lait et provenant du sang des malades. Pour garder le bacille du typhus virulent, nous employons la méthode que, depuis plusieurs années, nous avons trouvée et pratiquée: c'est la méthode de l'inoculation endocrânienne qui détermine une virulentation de tous les microbes, ceux du typhus surtout, et qui produit une septicémie très imposante chez le lapin.

Nous employons cette méthode, même pour isoler rapidement des matériels pathologiques les germes qui doivent servir pour les autovaccins, que nous allons inoculer directement dans le cerveau des lapins, en obtenant ainsi des septicémies rapides; cette méthode nous a donné des résultats très bons pour le dyplococcus de la pneumonie: on peut ainsi préparer, dans un délai de 24 heures, un autovaccin d'une grande efficacité résolutive, pour l'évolution de la maladie qui, étant de courte durée, a besoin de la préparation très rapide d'un autovaccin; c'est ce dernier seulement qui peut agir d'une manière rationnelle et scientifique.

Quant aux méthodes que nous employons pour obtenir un renfort de l'action vaccinante, nous ferons remarquer avant tout que l'association, employée par nous, du vaccin avec la protéino-thérapie, a une base scientifique très sûre et qu'elle est fortement prouvée par nos études expérimentales et renforcée par les résultats pratiques obtenus par la vaccino-thérapie pratiquée de la sorte.

Mais il faut parler, avant tout, d'une constatation scientifique indéniable, c'est-à-dire, de l'action stimulante sur les pouvoirs de défense organique par la protéinothérapie non spécifique, action dont personne maintenant ne peut pas douter.

On peut croire à l'apparence de la réalité du fait que la protéinothérapie renforce l'action des vaccins, si l'on songe que, parfois, les vaccins agissent bien, même comme protéino-thérapie aspécifique; c'est ce qui arrive, par ex., lorsqu'en se trompant dans son application, on emploie un vaccin qui ne correspond pas à l'étiologie de la maladie. Il y a pourtant des constatations scientifiques très importantes qui ont été faites ressortir

par le célèbre professeur Weichardt et qui sont le résultat de ses expériences et de celles d'autrez Auteurs (Doerr et Sachs, etc.); il résulte que si l'on va inoculer des protéines non spécifiques ou même d'autres substances stimulantes, chez un individu sensibilisé, lorsque cet individu se trouve en état allergique il y a lieu à une augmentation remarquable des anticorps spécifiques. C'est ce qui explique les bons résultats qu'on obtient dans les différentes maladies infectieuses, par la thérapie protéinique non spécifique.

Nous aussi, nous avons voulu prouver expérimentalement les assertions faites par d'Auteurs si remarquables: nous avons, en effet, obtenu chez les lapins, moyennant l'injection simultanée d'un vaccin typhique et de protéines d'origines différentes, une augmentation remarquable des agglutinines et des anticorps déviant le complément; c'est ce qui arrive surtout avec les protéines du lait et du foie.

Nous avons fait d'autres expériences à l'aide d'injections de lait préventives, simultanées et consécutives, chez des lapins infectés par de doses, sûrement mortelles, de charbon. Les résultats très bons qu'on a obtenu, montrent d'une manière très évidente l'avantage que l'on a sur l'augmentation de résistance contre les infections, quand on stimule l'organisme par les protéines du lait.

Toutes les expériences que nous avons pratiqué n'étaient pas tout à fait nouvelles; nous avons voulu les renouveler, pour nous persuader davantage que toutes nos applications pratiques ont une base scientifique très solide. Nous avons obtenu les résultats les meilleurs chez les animaux et chez l'homme dans un but thérapeutique, à l'aide du mélange des vaccins avec du lait et avec des protéines hépatiques, en des cas de typhus, de fièvre de Malte et de pneumonie. Nous sommes en train de faire d'autres expériences pour d'autres infections aussi, et nous souhaitons qu'elles puissent avoir un résultat autant favorable. Nous rappellerons aussi l'argument qui est encore l'objet de notre étude et qui se rapporte à l'effet de la présence des protéines sur le développement des cultures microbiennes: ceci nous a donné, pour le moment, des résultats assez concluants par rapport à l'effet stimulant que ces protéines exercent sur les microbes: ces derniers ont, en effet, un développement très grand; ils gardent leur virulence, les cultures demeurent en vie pendant longtemps, même une année, et les vaccins, ainsi préparés, ont, eux aussi, une plus longue durée.

Il faut discuter maintenant le véritable inconvénient de ce renfort protéinique de la vaccinothérapie: c'est celui de provoquer des réactions fébriles imposantes qui, bien que dans la plupart des cas elles produisent une guérison par crise, ne sont pas agréables du tout ni au médecin ni à ses clients; elles peuvent être aussi, quoique cela arrive rarement, dangereuses pour la vie du malade. On a pu aisément éviter ces facheux épi-

sodes, en se servant, même pour la protéinothérapie, de la découverte faite, dans un premier temps, sur l'action anti-fébrile de l'iode vis-à-vis de la tuberculine, et ensuite après une étude étendue faite sur l'action anti-anaphylactique de ce métalloïde. Cette action est appuyée sur de nombreuses expériences et sur l'application pratique faite, sur une grande échelle, et sans inconvénients. L'iode ne détruit pas le pouvoir antigénique des vaccins, ainsi que nous avons amplement démontré, car l'action vaccinante de la tubercoline et d'autres substances est obtenue nettement, même en iodisant les préparations employées. L'iode empêche l'anaphylaxie, ce qui résulte très utile dans la thérapie protéinique et vaccinante.

Pour conclure, si l'on a clairement démontrée, au point de vue expérimental et pratique, l'action renforçante de la protéino-thérapie associée aux vaccins, on a pu éviter de même les inconvénients des réactions fébriles exagérées. Cela implique la possibilité d'une large application pratique de cette méthode, en donnant toujours la préférence aux auto-vaccins, dont on facilite et on rend plus rapide la préparation par les méthodes spéciales déjà mentionnées, et surtout par celle de l'inoculation endo-crânienne aux animaux. Dans le but d'augmenter la valeur de mon assertion, je finis par citer quelques chiffres statistiques, desquels on peut tirer des conclusions plus exactes.

Les cas traités par les lacto-vaccins ont été, en total, pour le typhus et la fièvre de Malte, une centaine. Mais puisque les médecins ne donnent souvent pas de notices exactes, je ne puis rapporter que 81 cas dont je possède les comptes-rendus donnés par les médecins qui appliquent le traitement dont il est question. De ces cas, 29 se rapportent à l'infection melitensis et 52 au typhus, avec un diagnostic bactériologique pour presque tous. Dans les 52 cas de typhus, la thérapie des lacto-vaccins a été pratiquée en de différentes périodes de la maladies, et en de différents états de gravité. On a eu 4 cas mortels, dont un doit être exclus (cas de Sessa Aurunca) parce que le malade, amélioré et rendu apyrétique pour huit jours à l'aide de 4 injections de vaccin, s'empira de nouveau: les médecins, par scepticisme, n'appliquèrent plus le vaccin et le pauvre malade mourut, tandis que dans un cas, tout à fait analogue (cas de Poggiomarino), en répétant le traitement vaccinal pendant la rechute, on sauva le malade. Des trois autres sujets morts, l'un était un cas très grave en 25ème journée, présentant une faiblesse du miocarde (cas de M. Miranda). Le patient mourut après deux seules injections. L'autre cas se rapporte à un malade de Poggiomarino, très grave lui aussi, qui mourut après une seule injection. Le troisième enfin se rapporte à une malade de Madonna dell'Arco (M. Coppola), très grave elle aussi, qui fut soumise à deux injections seulement et qui mourut par suite d'une entérorragie. Les malades guéris doivent être répartis suivant la gravité et

la durée de la maladie. Dans les patient chez lesquels le vaccin était appliqué pendant le deuxième septénaire, on remarqua une transformation rapide de la courbe thermique, de sorte qu'avant l'entrée du troisième septénaire on avait des diminutions fébriles remarquables et après trois ou quatre injections au *maximum*, on avait déjà la guérison. Dans les individus à maladie avancée, on constatait une action nette et manifeste du vaccin; en effet la période appelée amphybologique était anticipée et la guérison s'effectuait après trois à six injections. Même chez des malades très graves (exception faite pour ceux qui avaient décedé et dont nous avons parlé plus haut), comme, par ex, chez un patient de Poggiomarino (de M. Cantore), chez un autre traité par M. Serafino de Striano et chez un troisième malade de Torre del Greco, on a obtenu de bons résultats. Souvent on obtenait la guérison du patient précisément à la fin du troisième ou du quatrième septénaire, ce qui faisait penser que le vaccin n'avait expliqué aucune action et que la guérison était naturelle. Mais on avait cependant plusieurs indices de l'action thérapéutique obtenue par cette méthode, premièrement parce que les malades traités par le vaccin non iodisé guérissaient après une seule injection, par suite d'une forte réaction; en d'autres patients on pouvait remarquer nettement (comme il résulte des courbes thermométriques annexées) une transformation rapide de la fièvre, de continuelle qu'elle était, en rémittente; de plus on constatait dès les premières injections, alors même que la fièvre n'était pas encore rémittente, un état d'éuphorie.

On pourrait tout rapporter aux protéines, plutôt qu'au vaccin, mais les premières injections jusqu'à la quatrième, étaient tellement diluées que plus qu'aux protéines il faut attacher de l'importance au vaccin, tout en reconnaissant qu'il était renforcé par la présence d'autres protéines en plus de celles des bactéries.

Une épreuve suffisamment sûre est donnée par l'action du vaccin dans la fièvre de Malte, où, à cause soit de la longueur de la maladie soit de l'action nulle apportée par d'autres remèdes jusqu'aux vaccins préparés moyennant d'autres méthodes, soit de l'apyrexie se vérifiant souvent après 4 injections seulement (rarement après un nombre supérieur, à savoir 6 et même 8 injections), l'on pouvait se convaincre aisément de l'effet du vaccin. Les cas traités ont été 21, tous guéris par voie naturelle. Chez quelques-uns d'entre eux le vaccin non iodé produisit la guérison en 24 heures, à l'aide d'une forte réaction; chez d'autres, au contraire, on a eu toujours en employant la iodisation, une guérison par lysis, plus lente mais sûre. Chez un malade de Resina (Nr. 60) avec lequel, dans le but de hâter le traitement, on le commença en employant un vaccin éthéré, on n'a obtenu un résultat évident que lorsqu'on a remplacé ce vaccin par un auto-vaccin.

A' tout prendre, les conclusions sont bonnes. Je me suis permis de faire cette communication, qui, au fond, porte une contribution simple et modeste à la méthode de la vaccino-thérapie, parce qu'elle pourra toujours servir à réaliser une plus grande diffusion de la méthode même, qui est encore acceptée avec un grand scepticisme par nombre de praticiens. Ce scepticisme a trouvé un appui, d'un côté dans les préparations de vaccins peu actifs, et de l'autre dans la réclame exagérée que l'on a fait sur l'efficacité extraordinaire des autres produits stimulants, soit protéiques soit métalliques, tandis qu'à mon avis, il reste sans discussion que, dans la plupart des cas, la protéino-thérapie doit être spécifique. Il se peut que l'on arrive à obtenir, par l'association des deux méthodes, un renfort évident de l'action thérapeutique de la part de ces vaccins, préparés en employant la méthode que je viens de proposer.

L'application de cette méthode vaccinante à la prophylaxie, à l'aide de l'ingestion par voie buccale, serait très utile. Dans les animaux elle m'a donné d'excellents résultats. Cette expérience rencontre beaucoup de difficultés, car il n'est pas facile de disposer d'un grand nombre de sujets, vivants tous dans les mêmes conditions.

Je souhaite que ma modeste communication réveille dans quelques-uns de mes Collègues le désir de faire cette expérience dans le but préventif, ce qui porterait à une nette décision à propos de l'effet de cette vaccination renforcée, qui du fait d'être pratiquée par la voie orale, déviendrait d'une exécution et d'une diffusion plus facile.

PUGNANI E. – Les équilibres des défenses immunitaires. (Recherches moyennant le " Bacterium Prodigiosum ").

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Je me suis occupé des réactions immunitaires présentées par le cobaye viv-à-vis de l'infection expérimentale due au *Bacterium prodigiosum.*

Au cours de cette étude j'ai considéré particulièrement: la distribution de ce germe dans le sang et dans les organes de l'animal infecté; le pouvoir bactéricide, phagocytaire et agglutinant du sang; le pouvoir bactéricide de quelques organes, et précisément de la rate, du foie, des reins, de la peau, du muscle; et enfin les altérations parallèles du système réticulo-endothélial et la distribution des lipoïdes consécutivement à l'infection.

De l'ensemble de mes observation j'ai pu constater, avant tout, que le pouvoir bactéricide du sang précède, dans la défense, le pouvoir bactéricide du sang précède, dans la défense, le pouvoir bactéricide des

organes. Et, de même, j'ai pu observer qu'il existe un parallelisme parfait et un rapport intime entre le pouvoir bactéricide des organes et la réaction proliférative histiocytaire; en effet, tous les deux atteignent leur *maximum* au bout de 96 heures environ à partir de l'inoculation. Enfin, j'ai remarqué que l'apparition du pouvoir bactéricide des organes coïncide avec la disparition des germes des organes mêmes.

J'ai donc constaté, particulièrement, ce qui suit:

— le quantitatif des *germes circulants dans le sang* diminue rapidement jusqu'à disparaître totalement au bout de 24 heures, environ;

— le *pouvoir bactéricide du sang* descend, immédiatement après l'inoculation, pour s'élever nettement et arriver au niveau le plus haut au bout de 24 heures environ; après quoi il descend nouvellement;

— le *pouvoir phagocytaire* suit, au début, une courbe analogue à celle du pouvoir bactéricide, après quoi il va toujours augmenter à fur et à mesure qu'il s'éloigne du moment de l'inoculation;

— le *pouvoir agglutinant* reste constamment négatif, moyennant toutes les dilutions;

— la *quantité des germes contenus dans les organes* à l'examen, diminue à mesure que les heures passent, mais plus lentement en comparaison des germes contenus dans le sang. En effet, même 120 heures après l'inoculation on rencontre encore des germes dans les organes, quoique dans un quantitatif très modique;

— le *pouvoir bactéricide des organes* demeure négatif jusqu'à la troisième journée après l'inoculation; ensuite il s'élève brusquement lors de la quatrième journée (96 heures). Le pouvoir bactéricide de la rate arrive au *maximum*; le foie, la peau, les reins, le muscle suivent en ordre de décroissance. À la cinquième journée, le pouvoir bactéricide se baisse et ensuite il demeure totalement négatif ou il dépasse de bien peu l'unité.

Pour ce qui en est aux altérations histologiques, l'on observe que, pendant les premières 24 heures, les phénomènes de réaction apparaissent graduellement; ils se développent pendant la deuxième journée, et il se manifestent d'une façon très évidente lors de la troisième journée, pour atteindre leur *maximum* après 96 heures environ. A partir de ce moment l'on remarque, ensuite, une rétrogression très lente du processus réactif.

Quant à la distribution des lipoïdes, il paraît que pendant la troisième et la quatrième journée, il y ait une légère augmentation et une variation de volume et de forme, dans le sens qu'on passe des gros blocs que l'on rencontre chez les animaux témoins, à des granules plus fins qui sont notamment évidents dans le fois et dans les reins. On ne doit pourtant pas considérer ce résultat comme un résultat constant; pour décider cette

question il faudrait répéter les expériences sur plusieurs animaux normaux et ayant de différentes abitudes. C'est ce que je me propose de faire, au cours d'une série de recherches ultérieures.

***

Naturellement, les communications que je viens de faire ne roulent que sur des résultats obtenus après une première série de recherches.

Or, ces résultats ne prétendent certainement pas à amener à des conclusions définitives; ils pourront plutôt servir seulement comme orientation pour un développement plus ample et plus armonique du plan de travail.

CANTANI F. – **Sur la préparation d'antigènes pour la déviation du complément dans le typhus, moyennant des extrait alcooliques de foies septicémiques.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'application de l'épreuve de la déviation du complément à la séro-diagnose du typhus abdominal est ancienne autant que la réaction même. En effet, Bordet et Gengou, les premiers, et Widal, Le Sour, Moreschi après peu de temps, ont réussi à démontrer dans le sérum des malades de typhus ou des animaux artificiellement immunisés, la présence d'anticorps spécifiques liant le complément. Wassermann employa la réaction — techniquement perfectionnée — soit pour le diagnostic sur le sérum humain, soit pour l'identification des souches du groupe typhus-paratyphus. Ses brillants résultats ont démontré la stricte spécificité de l'épreuve et, ensuite, ils ont été confirmés par une longue série d'Auteurs.

La déviation du complément, dans la séro-diagnose du typhus, a été donc étudiée et recommandée, comme substitution de la réaction de Widal-Grubler, surtout lorsque cette dernière perdit une partie de sa valeur pratique, à cause des faux résultats que l'on obtenait même à distance dans les individus articiellement immunisés.

En effet, M. Felke a constaté une déviation du complément positive seulement chez les malades de typhus et non chez les sujets immunisés, malgré le titrage agglutinant élevé de leurs sérums; cet A. constata, le premier, la différence de comportement entre les sérums des individus artificiellement immunisés et les sérums des malades; ses recherches ont été confirmées par Vogelin et Gernez, tandis que MM. Hage, Korff-Petersen et Schwabel se sont déclarés nettement contraires.

Tout en ne pouvant pas résumer, dans cette courte communication, toute la riche bibliographie concernant cet argument, je veux rappeler ici que M. Pijper le premier et M. Hadjopolus ensuite, ont constaté que la déviation du complément chez les malades de typhus est plus précocement positive de la réaction agglutinante; Hadjopolus a observé une déviation du complément positive pendant le premier septenaire de la maladie, en raison du 68% des cas et il a même constaté qu'avec le progrès de l'infection, les rapports entre les deux réactions sont invertis, de sorte qu'au cours du troisième septenaire, on passe du pourcentage de 92 à 100% de résultats positifs de la réaction agglutinant à celui de 75% de résultats positifs de la déviation du complément.

En examinant la littérature existante, je me suis convaincu, il y a trois années, que la question de l'utilisation pratique de la déviation du complément dans le séro-diagnostic du typhus ne pouvait pas être considérée complètement éclaircie et qu'elle aurait été digne d'être étudiée, surtout pour ce qui se rapporte aux antigènes que l'on emploit.

En utilisant le matériel qui est tombé sous mon observation pendant cette période de temps, j'ai pris en examen une centaine environ de sérums de sujets malades, en de différentes phases et contrôlés plusieurs fois, même à l'aide de l'hémoculture; en outre j'ai examiné quelques dizaines de sérums agglutinants à de doses élevées du groupe typhus-paratyphus.

De mes expériences il a résulté bien évident que les suspensions aqueuses — chauffées ou non — de bacilles de Eberth, possèdent des aptitudes antigéniques bien différentes, soit suivant la souche dont les germes mêmes proviennent, soit suivant les modalités culturales, l'époque de développement, le différent contenu microbien de la suspension et d'autres éléments encore. Afin d'éviter ces inconvénients qui apportent un préjudice considérable à l'utilisation pratique de la réaction, je me suis proposé d'étudier un antigène dont l'aptitude antigénique n'aurait pas été assujetie à des variations trop marquées et qui aurait pu posséder, avec un caractère de stabilité, le caractère de la spécificité. C'est pourquoi j'ai estimé bon d'expérimenter quelques extraits alcooliques d'organes appartenant à des lapins septicémiques, morts après l'inoculation endocranienne de bacilles d'Eberth.

Je dois rappeler avant tout, qu'en général la pathogénicité du bacille du thyphus n'est pas bien prononcée pour le lapin, tandis qu'elle devient très forte lorsqu'on provoque l'infection par le moyen des inoculations endo-craniennes, suivant la technique qui fut décrite jadis par M. A. Cantani et qui, ensuite, fut confirmée par nombre d'expérimentateurs.

Par suite de l'inoculation endo-cranienne d'une öse d'agar-culture âgée de 24 heures, provenant des bouillon-cultures d'une dizaine de souches différentes, délayée en 0,5 cmc. de solution physiologique stérile,

le lapin de 2 kilos de poids, environ, succombe à bout de 16-20 heures. Le résultat anatomo-pathologique constant est celui des septicémies aiguës et l'on parvient à isoler de tous les organes de l'animal, le b. de Eberth en culture pure, quoique l'on puisse obtenir un développement plus rapide et vigoureux, moyennant des ensemencements d'une anse de sang prélevé du coeur ou du foie.

Aussitôt le lapin a succombé, j'ai initié la préparation des extraits alcooliques de foie, suivant les règles bien connues. On étudiait l'aptitude antigénique spécifique de ces extraits seulement après en avoir établi les caractéristiques différentes, soit isolément, soit par rapport à des antigènes contrôles représentés par:

1) des suspensions, stérilisées ou non à la chaleur, d'une anse de bacilles de Eberth sur agar-cultures de 24 heures, en 10 cmc. de solution physiologique stérile;

2) des extraits alcooliques d'organes appartenant à des lapins normaux;

3) des suspensions de paratyphus A, B et de *b. coli.*

La déviation du complément a été exécutée moyennant la technique classique, qui fut précédée par le contrôle préventif de l'ambocepteur par rapport au complément et à la suspension de globules rouges que l'on employait; c'est seulement pour un groupe d'expérience que je me suis servi des sérums à l'examen provenant des malades ou bien agglutinants, rapportés au titrage de 1 : 300, soit actifs, soit inactivés par la chaleur. Enfin, tous les sérums à l'examen, y compris ceux qui appartenaient à des individus sains ou luétiques à R. W. positives, ont été soumis simultanément à la recherche de la présence des agglutinines spécifiques.

Il n'est certainement pas facile que de résumer en quelques lignes la complexité d'une série plutôt longue d'expériences, et je suis forcé d'éliminer ici tout détail et chaque particularité que j'ai pu observer; je me bornerai donc à tracer un tableau d'ensemble qui peut être exposé comme suit:

L'adoption d'antigènes représentés par des extraits alcooliques de fois de lapin septicémique, moyennant l'inoculation endo-cranienne, rend beaucoup plus pratique et sûre la recherche de la déviation du complément dans la sérodiagnose du typhus et dans la différentiation du groupe typhus-paratyphus, car l'antigène stable ayant des caractéristiques connues et constantes, permet d'éviter de considérables causes d'erreur, tout en restant dans les bornes de la spécificité la plus stricte.

Grâce à l'emploi de ces antigènes, la réaction apparaît nette et marquée d'une façon égale, soit pour les sérums des malades, soit pour les sérums agglutinants rapportés au titrage susdit; ces derniers, à partir de la dilu-

tion 1 : 200 en avant, apparaissent nettement positifs et ils permettent de remarquer un certain parallelisme du degré de positivité par rapport à la réaction de Widal Grubler. Il paraît que la déviation du complément aurait, vis-à-vis de cette épreuve, une plus grande précocité, puisque plusieurs sérums qui, à l'épreuve de l'agglutination faite dans le premier septenaire, résultent négatifs, apparaissent positifs, d'une façon plus ou moins prononcée, pendant la même période moyennant l'épreuve de la déviation du complément. À mon avis et d'après la technique que j'ai employée, cette dernière ne serait pas apte à différencier les états de l'immunité artificiellement acquise, des états de l'immunité acquise au cours de la maladie.

Je pense qu'en employant l'antigène que je viens de proposer, il serait bon de se servir de la déviation du complément chaque fois que, pendant les premières périodes de l'infection, la réaction agglutinante donne un résultat négatif. Je serai bien heureux si mes modestes expériences, après avoir été amplement contrôlées, pourrot constituer un aide pas tout à fait inutile pour la séro-diagnose du typhus abdominal.

CANELLI A. – **Expériences d'immunisation avec la réaction de Schick et avec l'emploi de l'anatoxine diphtérique de Ramon sur des cobayes tuberculeux et sur des cobayes sains. Déductions de clinique pratique.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Mes premières expériences sur la réaction de Schick remontent à 1927, lorsque j'en publiai, partiellement, les résultats obtenus par moi, roulant sur les diverses modalités de la réaction.

Depuis lors, j'ai continué ces expériences, au point de pouvoir en publier intégralement aujourd'hui les résultats.

Les cobayes sur lesquels j'ai expérimenté, se distinguent en deux groupes: tuberculeux et sains (1).

Les premiers ont été trouvés tuberculeux à l'autopsie, infectés à des degrés très divers. Leur nombre est de vingt-sept.

Les cobayes sains sont au nombre de quarante-cinq.

J'ai conduit les recherches d'une manière identique et parallèle sur les deux groupes.

---

(1) J'ai ainsi disposé mon plan de travail, poussé par le désir de vacciner contre la diphtérie les nombreux malades tuberculeux – tuberculose dans ses variétés multiples de l'Hôpital B. Ottolengo de Turin.

Premier lot de cobayes. — Six tuberculeux et douze sains.

J'ai effectué, pour chacun d'eux et chaque dix jours, une réaction de Schick sur la peau épilée par arrachage sur six de ces animaux, en me servant pour les deux premières réactions de 1/25 de dmm. de toxine diphtérique, pour les deux suivantes de 1/50 et pour les autres de 1/100. J'ai employé la méthode technique classique, ayant soin que le dilutions voulues de la toxine fussent faites le jours même où j'exectuais la réaction de Schick.

J'ai noté, constamment, une diminution progressive — pour intensité chromatique, halo, écaillement, oedème et surface — de la réaction de Schick jusqu'à atteindre sa complète négativité chez deux cobayes tuberculeux et chez un sain.

Vingt jours après la dernière réaction, j'ai iniecté tous les animaux, à quatre jours d'intervalle, avec des doses graduelles et progressives de 1 à 5 dmm. de toxine diphtérique. Les animaux des deux groupes sont tous morts, démontrant, par la syndrome de l'intoxication diphtérique, de ne pas avoir supporté la toxine et par suite, de ne pas avoir été vaccinés.

Au début les cobayes tuberculeux, n'ont pas démontré, en présence de la réaction de Schick et des injections de toxine diphtérique, aucune sensibilité particulière combinée qui aurait pu les différencier des sains d'une manière probante.

Deuxiéme lot de cobayes. — Huit tuberculeux et quinze sains. L'anatoxine de *Ramon* est appliquée à chacun par la voie nasale, au moyen d'instillation avec une pipette dans chaque narine, à la dose quotidienne d'une goutte. L'administration est faite vingtquatre fois, laissant un intervalle de douze jours entre une huitaine et l'autre.

Vingt-deux jours après la dernière instillation les cobayes sont injectés avec des doses progressives de 5 à 12 dml. de toxine diphtérique.

Deux cobayes tuberculeux meurent entretemps de marasme aigu, sans présenter aucunement le tableau de l'intoxication diphtérique; l'autopsie revèle l'existence d'une tuberculose diffusée, surtout glandulaire avec caséite. Tous les autres cobayes survivent.

A la cinquème semaine, après la dernière instillation j'effectue la réaction de Schick sur sept des douze cobayes sains utilisés pour l'expérience et je la trouve négative.

Troisième lot de cobayes. — Trois tuberculeux et dix sains. Je procède comme pour le deuxième lot, avec la différence que je fais des pulvérisation endonasales et endopharyngiennes d'anatoxine à la dose de ½ cmc. chaque fois et pendant trois jours consécutif, en répétant les triduums trois fois, à des intervalles de dix jours.

Aucun animal n'a succombé et la réaction de Schick effectuée sur quatre des dix cobayes sains pris au hasard, a été négative.

Quatrième lot de cobayes. — Dix tuberculeux et onze sains. Je fais à chacun trois injections d'un demi cmc., un cmc., un cmc. et demi d'anatoxine *Ramon* avec un intervalle de 21 jours entre la première et la seconde, de 15 jours entre .a deuxième et la troisième.

Trente jours après la dernière injection les cobayes sont injectés avec des doses progressives de 10 à 25 dmm. de toxine diphtérique. Aucun animal ne meurt et la réaction de Schick effectuée trente jours après la dernière administration de toxine diphtérique est négative chez tous les animaux.

Cinquième lot de cobayes. — Trois tuberculeux et trois sains. Je procède d'une manière analogue, comme pour le quatrième lot, avec cette différence que j'abrège, considérablement, les intervalles entre les injections d'abatoxine, les réduisant à quatre jours.

Les animaux ne meurent pas; toutefois la réaction de Schick n'est pas nettement négative; bien mieux, lorsqu'elle est effectuée vingt jours après la dernière administration chez un cobaye sain, elle est fortement positive et garde sa positivité encore deux mois après.

Il faut noter que j'avais infecté de tuberculose les cobayes, quatre jours avant de commencer les expériences sur l'immunisation diphtérique.

Les résultats sont suffisamment probants pour conclure que les cobayes tuberculeux aussi bien que les sains se comportent en présence de la réaction de Schick et à l'administration d'anatoxines combinées, d'une manière à peu près égale.

La tuberculose en cours semble ne pas diminuer du tout l'immunisation contre la diphtérie lorsque cele-ci est effectuée convenablement et à des intervalles appropriés entre les injections d'anatoxine.

Cette dernière indication concorde avec ce qui se produit dans la clinique et que moi-même j'ai constaté plusieurs fois: c'est-à-dire que lorsqu'on abrège les intervalles entre les differentes infections, les resultats de l'injection d'anatoxine sont moins valides et moins constants.

Je crois de pouvoirs ajouter encore, en restant toujours dans le domaine clinique, que cette dernière observation vaut surtout pour les sujet plus jeunes.

J'ai cru opportun de laisser passer au moins trois semaines, depuis la dernière intervention, avant d'injecter la toxine diphtérique, parce que j'ai eu la conviction que les cobayes n'acquièrent pas une immunité antidiphtérique certaine avant telle époque.

Pour atteindre l'immunité il faut pratiquer également chez le cobaye trois injections d'anatoxine. Il est rare et insuffisant d'obtenir l'immunité après une ou deux injections.

Ce qui, du reste, confirme également ici l'observation clinique, vé-

rifiée par moi plusieurs fois. Si on soumet un cobaye à un traitement immunisant voulu contre la diphtérie et puis après un trop court intervalle de ce dernier on injecte la toxine, l'animal meurt de diphtérie. Ainsi la vaccination avec l'anatoxine chez l'enfant et chez l'adolescent confère une bonne immunité, seulement après trois injections et après un certain temps depuis la dernière injection, que l'on peut évaluer à trois ou quatre semaines. Avant, le sujet injecté peut tomber malade de diphtérie, surtout s'il vit journellement avec quelque diphtérique, comme il arrive dans les familles, dont les logements sont pauvres quant au nombre et à la cubature des chambres.

A ce propos, dans les épidémies de familles et de communautés j'emploie avec d'excellents résultats la séro-prophylaxie, comme la méthode qui, dans la pratique, répond rapidement au but. La prophylaxie extemporanée à l'aide de la vaccination n'est pas possible pour les motifs exposés.

Je fais encore une recommandation pratique. Même dans un but prophylactique il faut injecter beaucoup de sérum et aussitôt que possible: j'arrive à 5000-7000 U. I. C'est dans la quantité et la precocité que réside le succés. Les plaintes de quelques collègues que le sérum n'agit plus ou agit peu est sans fondement, tant au point de vue curatif qu'à celui prophylactique. Erigeons en axiome le dicton bien connu: «frapper fort, mais surtout frapper vite».

Je considère comme plus sûre et plus pratique — en évaluant les difficultés rencontrées — l'immunité antidiphtérique suivant la technique de l'anatoxine injectée, que je préfére à celle instillée ou pulvérisée dans les narines et dans la gorge. La différence ne résulte pas autant de mes expériences sur les animaux que des observations cliniques répétées.

Les cobayes tuberculeux ne se sont pas comportés, en présence du procédé immunitaire antidiphtérique, d'une manière substantiellement différente des cobayes sains. Une semblable direction expérimentale concorde avec celle clinique d'autres auteurs et avec la mienne. A l'Hôpital Beato Cottolengo de Turin, dans la Section pédiatrique dirigée par moi, j'ai vacciné, impunément et avec succès, vingt-deux tuberculeux — également phtisiques — à l'âge variable de trois â huit ans, sans aucun inconvénient évident, ni subjectif, ni objectif, attribuable aux injections de l'anatoxine de Ramon.

D'après mon expérience la dose très faible que l'on emploie régulièrement dans la réaction de Schick n'est pas suffisante pour stimuler la production d'antitoxine, au point que les cobayes, traités avec la réaction de Schick, ne résistent pas à l'introduction de la toxine diphtérique.

Cela n'arrive pas chez les cobayes traités avec l'anatoxine diphtérique de Ramon. Elle représente, jusqu'ici, la méthode d'immunisation

temporaire par excellence, lorsqu'on n'a pas à combattre immédiatement l'infection.

La répétition de la réaction de Schick, régulièrement périodique chez le même animal a, vraisemblablement, un effet immunisant — peut-être que les toxoïdes de la toxine employée agissent dans ce sens — mais il est tellement peu sûr, inconstant et léger à ne pas en autoriser du tout l'emploi dans la pratique clinique de l'immunisation antidipétérique.

SALVIOLI G. – **Action de l'éther sur la toxine tétanique libre ou liée à un tissu nerveux.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Quelques bons résultats obtenus en soignant des tétaniques, non seulement avec la sérothérapie, mais aussi moyennant l'introduction de l'éther en solution huileuse dans les dernières portions des intestins, m'ont induit à rechercher quelle action peut avoir l'éther sulfurique sur la toxine tétanique libre ou liée à un tissus nerveux.

Il fallait resoudre la question si l'éther (qui en 4 cas sur 5 de tétanos grave d'enfants et d'adolescents, m'a donné, en ecopération avec la sérothérapie, la guérison des malades) aurait la faculté de détruire la liaison toxine-système nerveux, de manière à permettre la neutralisation de la toxine libérée, au moyen du sérum spécifique injecté.

On ne peut donner une réponse définitive après des essais pratiqués avec la toxine tétanique chez les cobayes qui sont atteints d'une affection totalement différente de celle que l'on constate chez l'homme atteint de tétanos.

On peut, toutefois, sur la base d'essais probatifs, considérer qu'une semblable éventualité est possible.

Les résultats obtenus sont, brièvement, les suivants:

a) l'éther en contact, pendant un temps suffisamment long, avec la toxine, lui fait perdre une grande partie de sa toxicité;

b) de courts contacts entre éther et toxine permettent à celle-ci de conserver ses propriétés toxiques;

c) l'éther mêlé à un tissu nerveux, puis complètement enlevé par l'évaporation, modifie le tissu de manière à lui faire repousser, des liquides contenant de la toxine, une quantité de toxine plus grande en comparaison de ce que pourrait faire le tissu nerveux normal;

d) l'éther employé comme liquide extractif et de lavage sur des mélanges toxines-tissu nerveux conservés précédemment à 37°, exalte

dans ces mélanges (dans le liquide de lavage et dans la bouillie résiduaire) le pouvoir toxique, par rapport à celui qui résulte de mélanges analogues toxine-tissu nerveux, traités simplement avec des solutions physiologiques.

Cette dernière observation laisse entrevoir pour l'éther la possibilité posséder l'action supposée, grâce à laquelle il pourrait libérer de nouveau la toxine et la rendre attaquable par le sérum spécifique.

TRIVELLINI A. – **Recherches et rapports entre les anticorps de la lymphe en comparaison avec ceux du sérum du sang des artères et des veines.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Les études qui ont été faites jusqu'à aujourd'hui sur la lymphe ont eu pour but d'en examiner les caractères généraux, et la composition chimique ; les savants ne se sont pas préoccupés de l'importance que l'humeur contenue dans le système lymphatique pouvait avoir dans les processus immunitaires.

Ce n'est que tout dernièrement qu'on a fait des recherches, pour examiner à fond le contenu en anticorps existant dans la lymphe des animaux normaux ou d'animaux immunisés avec différents schizomycètes.

En examinant le chyle et la lymphe de chiens normaux, Neisser a constaté qu'il n'y a aucun pouvoir bactéricide, tandis que Meltzer et Norris sont arrivés à des conclusions diamétralement opposées car en comparant le pouvoir bactéricide en rapport avec le b. du typhus, soit du sérum de sang soit de la lymphe, ils ont constaté que tous les deux possèdent un pouvoir bactéricide assez prononcé vers ce schizomycète.

Löwit, bien qu'il n'exclue point la présence de bactériolysines dans la lymphe, affirme que le sang possède un pouvoir bactéricide plus prononcé.

Battelli, fait remarquer que le sang et le sérum de lymphe possèdent un pouvoir bactéricide homologue par rapport au vibrion du choléra.

Le pouvoir hémolytique du sérum de lymphe comparativement à celui du sang fut étudié par Falloise: Jacono, tout dernièrement a repris cet étude.

Cet A. a produit une fistule dans le canal lymphatique d'un chien, dans le but d'observer si des germes y sont présents lorsque les animaux sont à jeun, soit après les repas. Il a aussi étudié le pouvoir hémolytique du sérum de lymphe en relation avec celui du sang par rapport aux hématies des lapins.

D'après ses expériences l'A. conclue en affirmant que le pouvoir hémolytique naturel du sérum de lymphe des chiens par rapport aux hématies des lapins est toujours inférieur à celui du sérum de sang de cet animal, bien que ce pouvoir conserve toujours une certaine valeur.

Le comportement des bactériolysines à la chaleur fut étudié par Schneider; il observa que le pouvoir bactéricide de la lymphe, en comparaison du bacille du typhus, disparait si l'on chauffe à 55° pendant une demie heure; Ikegami, au contraire a étudié les propriétés des substances bactéricides thermostables présentes dans la lymphe extraite du canal thoracique des chiens et des lapins.

Nigrisoli fit une étude assez complète sur les anticorps contenus dans la lymphe, en suivant une méthode très précise, qui lui a permis d'extraire du canal thoracique des lapins une quantité de lymphe suffisante pour en étudier le pouvoir bactéricide, le pouvoir complémentaire, le pouvoir opsonique, bactériotropique, et d'agglutination, en comparaison avec celui du sang, et en relation avec le *B. coli*, le staphylococque et le bacille du typhus.

L'A. a ainsi observé qu'il y a de grandes différences entre les processus immunitaires de la lymphe et ceux du sang, surtout pour le pouvoir complémentaire et le pouvoir d'agglutination.

Ruggerini s'est proposé, tout dernièrement, d'étudier l'action neutralisante de la lymphe normale de plusieurs animaux sur les toxines du tétanos. Ces recherches ont permi à l'A. d'arriver aux conclusions suivantes:

1) Dans la lymphe normale de cheval, de boeuf, de la brebis, de porc et de lapin, il existe un pouvoir antitoxique, très peu prononcé, qui arrive à peine à 1 U. A. par cc.; il est un peu plus prononcé pour la lymphe de porc.

2) Le pouvoir antitoxique de la lymphe d'un animal immunisé contre le tétanos (lapin) augmente considérablement, comme celui du sang, bien qu'il n'arrive jamais à égaler ce dernier; le *maximum* dans la lymphe est de 1:20, dans le sang de 1:100.

En se fondant sur ces faits l'A. affirme que « Les toxines qui arrivent dans les espaces intra-cellulaires des tissus ou qui y sont directement inoculées, y trouvent la défense qui protège les cellules sensibles. Cette défense devient toujours plus semblable à celle du sang, car on sait (Metchnikoff) que les vases sanguins, lorsqu'il se produit un état d'irritation phlogistique, deviennent toujours plus perméables aux agents immunisés qui circulent dans le sang.

* * *

Toutes ces expériences nous démontrent que les résultats des recherches des AA. qui se sont occupés de cette question sont incomplets et souvent même contradictoires: il m'a donc semblé être le cas de continuer l'étude sur cette question en faisant des expériences sur les propriétés immunitaires de la lymphe d'animaux normaux et d'animaux immunisés, et de les confronter avec les mêmes propriétés du sang des artères et des veines prélevé sur différentes parties de l'organisme.

J'ai donc étudié le pouvoir complémentaire, le pouvoir bactéricide, bactériotropique, opsonique, d'agglutination, et le pouvoir hémolytique du sérum de lymphe et du sérum de sang; c'est le lapin qui m'a servi comme animal d'expérience et le bacille du typhus comme germe. J'inoculais le bacille par voie intraveineuse aux animaux qui devaient être immunisés: les doses étaient d'1 cc. de culture en bouillon, après avoir tué les germes en les tenant au bain-marie, à 65°, pendant une heure.

Je me bornerai à décrire ici la méthode dont je me suis servi pour recueillir la lymphe, ce qui n'est pas facile pour de petits animaux d'expérience et à donner une description sommaire de la technique dont je me suis servi pour chaque épreuve immunitaire.

Je prélevais stérilement la lymphe dans la veine sous-clavière de gauche, car il n'est pas possible de la prélever directement du canal thoracique à cause de la grande variété des orifices où il débouche.

Après avoir isolés la veine jugulaire gauche, et après une soigneuse hémostase des veines collatérales je descendais vers le sternum dont je sciais quelques cm.; je mettais ainsi en évidence le tronc veineux brachiocéphalique, je l'entourais ensuite d'un petit Descamps et le liais avec un fil de soie. Voilà l'opération la plus délicate de toute l'expérience, car elle est souvent dérangée par des hémorragies soudaines et par des anomalies vasale qui empèchent d'arriver au plexus veineux du système jugulaire.

Ensuite je liais la veine jugulaire et la veine sous-clavière le plus loin possible du point où elles se croisent. Si le plexus isolé de cette façon se trouve sans aucune communication avec ces collatérales il grossit immédiatement. En pratiquant une incision dans la veine jugulaire le plus près possible d'où elle se croise avec la veine sous-clavière, on observe qu'un liquide gélatineux et blanchâtre sort de la coupûre: on le recueille en se servant d'un petit tube de verre introduit dans la veine.

Sur de gros lapins, j'ai pu extraire de cette façon de 20 à 25 cc. de lymphe, quantité suffisante pour les expériences que je m'étais proposées.

Aux animaux qui m'avaient donné une quantité de lymphe suffisante

pour les expériences, je prelevais encore quelques cc. de sang artériel et veineux sur différentes parties de l'organisme, et je m'en servais pour les épreuves comparatives.

À une partie de la lymphe et du sang, laissés dans une glacière on faisait séparer le sérum, et le reste était défibriné sans un petit matras stérile contenant des perles de verre.

***

Pouvoir complémentaire. — Pour la recherche du pouvoir complémentaire je me suis servi de sérum de lymphe frais et de sang artériel et veineux d'animaux normaux et immunisés avec des bacilles du typhus. J'introduisais dans une série d'éprouvettes, pour chaque expérience, des quantités décroissantes de sérum frais dilué à 1/5; après y avoir ajouté des corpuscules rouges de mouton, sensibilisés avec du sérum hémolytique anti-mouton inactivé, je portais à 4 cc. le contenu de chaque éprouvette en y ajoutant de la solution physiologique. Après avoir laissé les éprouvettes pendant une heure au bain-marie, je lisais les résultats et je les controlais après leur sejours de 24 heures en glacière.

Pour chaque série d'expériences et pour chaque sérum j'établissais des contrôles avec des globules rouges de mouton non sensibilisés, pour me rendre éventuellement compte de l'action hémolytique du sérum.

Je ne donnerai point, pour abréger, la description détaillée de toutes les expériences. Leur ensemble fut assez constant et il démontra que le sérum de lymphe possède un pouvoir complémentaire peu prononcé: l'hémolyse n'a jamais été complète, excepté dans les éprouvettes contenant du sérum pur et pour certains cas aussi dans celles contenant 1 cc. de sérum dilué à 1/5. Je n'ai pas observé de profondes différences entre le sérum de lymphe d'animaux normaux et le sérum de lymphe d'animaux immunisés avec le b. du typhus.

Le sérum de sang veineux donne des résultats qui se rapprochent de ceux obtenus avec de la lymphe. Le pouvoir complémentaire y est aussi peu prononcé et toujours inférieur à celui du sang artériel. Le sérum de sang artériel, en effet, a démontré de posséder un pouvoir complémentaire encore évident à la concentration de 0.7-0,6 cc., à la dilution de 1/5, tandis que le sang veineux des animaux normaux et de ceux immunisés a manifesté le pouvoir complémentaire dans les éprouvettes contenant du sérum pur, et, tout au plus, dans celles contenant 1-0,8 cc. de sérum dilué à 1/5.

Pouvoir bactéricide. — La recherche du pouvoir bactéricide fut faite sur la lymphe et sur le sang, artériel et veineux, recueilli stérilement dans

de petits matras et défibriné, et en outre aussi sur le sérum correspondant. Je suivais la technique décrite ci-dessous: je mettais en contact 1 cc. de liquide à étudier, avec 1 cc. de la suspension des bactéries opportunément diluée. Avec une moitié du mélange je préparais de suite des frottis d'agar, tandis qu'avec l'autre moitié je préparais aussi des frottis d'agar après un séjour de quatre heures au thermostate. Après avoir laissé les frottis à l'incubation pendant 48 heures à 37°, je comptais les colonies. Le P. B. était évalué en se basant sur le rapport entre le nombre des colonies comptées dans la première série de frottis et le nombre de celles comptées dans la seconde.

J'ai fait les expériences soit avec la lymphe soit avec le sang d'animaux immunisés avec les b. du typhus.

Les résultats prouvent que le sérum de lymphe n'a presque pas de propriétés bactéricides, tandis que la lymphe défibrinée des animaux normaux et de ceux immunisés démontre, par rapport aux bacilles du typhus, un pouvoir bactéricide comparable à celui que l'on obtient avec du sang veineux et artériel defibriné. Le sérum de sang veineux et artériel a un P. B. supérieur à celui du sérum de lymphe, mais qui reste toujours inférieur à celui du sang defibriné.

Pouvoir phagocytaire et Pouvoir opsonique. — Quant à la recherche du pouvoir phagocytaire et de celui opsonique je me servais d'une suspension de bactéries préparée en suivant toujours la même méthode pour réduire au *minimum* les erreurs dues à la technique.

Pour déterminer le pouvoir phagocytaire je me suis servi de lymphe et de sang, veineux et artériel, prélevé sur le moment.

Je traitais des quantités fixes de lymphe et de sang avec 1 cc. de suspension bactérienne, et après avoir laissé les éprouvette au bain-marie pendant 30 minutes je faisais des frottis qui étaient ensuite colorés avec du bleu de méthylène. Je comptais enfin 100 leucocytes en évaluant le pouvoir phagocytaire d'après le rapport entre le nombre des germes phagocytaires et le nombre des leucocytes comptés.

Pour le pouvoir opsonique je me suis servi de sérum de lymphe frais et de sang artériel et veineux. Le sérum était distribué dans des éprouvettes, 1 cc. par pièces, et j'ajoutais ensuite, à chacune, 1 cc. de suspension de bactéries et de leucocytes frais lavés avec de la solution physiologique. Après avoir laissé ce mélange au bain-marie pendant 30 minutes je faisais des frottis et je les colorais avec du bleu de méthylène.

L'évaluation du pouvoir opsonique était faite de la même façon que pour le pouvoir phagocytaire. Les leucocytes frais étaient obtenus en inoculant dans le péritoine des cobayes 30 ou 40 cc. de solution physiologique et de bouillon de boeuf peptonisé. Cinq ou six heures après on pré-

levait le liquide peritonéal, on le passait longtemps à la centrifuge, et on le lavait plusieurs fois: ensuite je diluais la partie centrifugée avec de la solution physiologique dans la proportion de 1/3.

L'ensemble des expériences m'a permis d'observer que la lymphe et le sang ont des propriétés phagocytaires plutôt prononcées, sans pouvoir remarquer entre la lymphe et le sang et entre le sang veineux et celui artériel de fortes différences.

Le pouvoir opsonique pour le sérum de lymphe et pour le sérum du sang artériel et de celui veineux est inférieur au pouvoir phagocytaire.

Je n'ai pu remarquer aucune différence entre les animaux normaux et ceux immunisés avec les bacilles du typhus.

Pouvoir bactériotropique. — Pour déterminer la valeur en immunotropines du sérum de sang et de la lymphe, j'ai chauffé, pendant 30 minutes, à 55°, les sérums en question, soit d'animaux normaux soit de ceux immunisés. J'introduisais dans une série d'éprouvettes stériles 0,25 de la suspension des bactéries et 0,25 de leucocytes de cobayes recueillis stérilement dans l'essudat de la cavité du péritoine.

Ensuite j'ajoutais des quantités variables de sérum chauffé auparavant à 55° pendant 30 minutes, et à de différentes dilutions, de façon à avoir le volume total de 1 cc. pour chaque éprouvette. Les dilutions étaient faites de manière à ce qu'en définitive, le volume d'1 cc. de sérum fut dilué, pour chaque série d'éprouvettes, respectivement à 1 : 10, 1 : 25, 1 : 30, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500, 1 : 1000.

Je laissais ensuite le tout au thermostate à 37° pendant une demie heure et préparais enfin des frottis que je colorais au bleu de méthylène.

En tenant compte qu'il pouvait éventuellement se manifester une phagocytose spontanée, et de l'action phagocytaire due aux leucocytes, j'ai toujours fait des épreuves de contrôle outre celles générales.

Pouvoir agglutinant. — J'ai fait les expériences avec des lapins immunisés moyennant des bacilles du typhus chauffés auparavant à la température de 65° pendant une heure: sept jours après la dernière injection je prélevais le sang des artères et des veines, et la lymphe, et je faisais les essais d'agglutination sur chaque sérum, inactivé à 56° pendant 30 minutes.

Pour ce qui en est de la technique, je traitais des quantités constantes du sérum en question (0,5 cc.), à de différentes dilutions (sérum dilué 1 : 10..... 1 : 7000), avec 0,5 cc. de suspension bactérienne de bacilles du typhus vivants. Après avoir laissé pendant une heure les éprouvettes au thermostate a 37° je faisais la lecture.

D'après ces expériences j'ai remarqué que le sérum de lymphe pos-

sède un pouvoir d'agglutination très bas ou même nul (dilution 0,10-0,20) tandis que le titre du sérum de sang, tant artériel que veineux peut être porté à un titre de 1 : 5000 — 1 : 7000.

Il ne me résulte aucune différence entre le pouvoir agglutinant du sérum du sang artériel et celui du sang veineux.

Pouvoir hémolytique. — Pour la recherche du pouvoir hémolytique du sérum de lymphe et de sang, j'inoculais les animaux d'expérience avec des globules rouges de mouton, globules qui étaient recueillis stérilement, lavés et dilués avec de la solution physiologique. L'injection, à la dose de 2 cc., était pratiquée dans la veine marginale de l'oreille et répétée chaque 4 jours: le sang et la lymphe pour la déterminaison définitive étaient prélevés huit jours après la dernière injection.

Après avoir inactivé le sérum, j'introduisais dans une série d'éprouvettes des quantités égales de corpuscules rouges (0,5 cc.) et la même quantité de complément et de sérum hémolytique en question à de différentes dilutions. Le contenu de toutes les éprouvettes étais ensuite porté au même volume de 2,5 en y ajoutant de la solution de chlorure de sodium au 0,85%.

Outre les expériences principales j'en faisais aussi de celles de contrôle, pour me rendre compte, si, par hasard, le sérum en question et le complément correspondant possédaient eux aussi des propriétés hémolytiques.

Les résultats obtenus avec mes expériences démontrent clairement que le sérum de lymphe possède un pouvoir hémolytique, par rapport aux corpuscules rouges du mouton, assez prononcé si on le compare aux autres anticorps. J'ai, en effet, obtenu une hémolyse complète avec du sérum de lymphe à la dilution de 1 : 700, 1 : 1000; je n'ai toutefois jamais obtenu des valeurs qui, pour le même animal, pouvaient être comparées à celles du sérum de sang.

Le sérum de sang veineux et celui de sang artériel possède un pouvoir hémolytique supérieur à celui du sérum de lymphe, bien que pour chaque animal il y ait une proportion directe entre le pouvoir hémolytique du sérum de lymphe et celui de sang. (sérum de lymphe 1 : 700; sérum de sang 1 : 2500; lymphe 1 : 1000; sang 1 : 4000).

Je n'ai point remarqué de sensibles différences entre le pouvoir hémolytique du sang arteriel et celui du sang veineux.

Les conclusions que mes recherches me permettent de faire sont les suivantes;

1) Le pouvoir complémentaire du sérum de sang artériel est supérieur à celui du sérum de lymphe et à celui de sang veineux. Il n'y a aucune différence appréciable entre le pouvoir complémentaire du sérum du sang veineux et celui du sérum de lymphe.

2) Le pouvoir bactéricide du sérum de lymphe par rapport au bacille du typhus est insignifiant et toujours inférieur au pouvoir bactéricide du sérum de sang, soit pour les animaux immunisés soit pour les animaux normaux. Je n'ai observé aucune différence entre le pouvoir bactéricide du sérum de sang artériel et celui du sérum de sang veineux.

3) Pouvoir phagocytaire et pouvoir opsonique. La lymphe et le sang artériel et veineux possédent un pouvoir phagocytaire assez prononcé.

Le pouvoir opsonique dans le sérum de lymphe et dans le sang artériel et veineux est inférieur aux pouvoir phagocytaire correspondant. Je n'ai remarqué aucune différence entre animaux normaux et animaux immunisés.

4) Le sérum de sang artériel, de sang veineux, et le sérum de lymphe possèdent un pouvoir bactériotropique qui n'est pas très prononcé. Il n'y a aucune différence appréciable entre les valeurs obtenus pour les différents sérums.

5) Le pouvoir d'agglutination du sérum de lymphe est nul. Il n'y a aucune différence entre le pouvoir d'agglutination du sérum de sang artériel et de sang veineux.

6) Le sérum de lymphe d'animaux auxquels on a inoculé des globules rouges de mouton possède des propriétés hémolytiques (1:700, 1:1000) très prononcées. Les propriétés hémolytiques du sérum de lymphe sont un peu moins prononcées que celles du sérum de sang. Il n'y a aucune différence entre le pouvoir hémolytique du sang artériel et celui du sang veineux.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin.

CUCCO G. P. – **Les glandes endocrines et les défenses immunitaires dans l'infection expérimentale par staphylocoques.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

J'ai étudié le comportement des réactions humorales et hystiocitaires qui ont lieu dans l'organisme, consécutivement à l'infection expérimentale provoquée par des germes donnés; je me suis occupé particulièrement de la participation éventuelle des glandes principales, à sécrétion interne, au complexe processus de défense.

Je me suis servi de lapins en bas âge, en les soumettant à des injections de quantités déterminées de staphylocoques. J'ai employé, dans ce but, une souche de germes dont la virulence ne fut pas, d'un côté, telle

à amener la mort rapide de l'animal, mais de l'autre côté elle aurait dû provoquer assurément une réaction défensive la plus prononcée.

Voici les recherches que j'ai pratiquées, dans le but de mettre en évidence l'activité de l'organisme:

— l'étude de la courbe thermique de l'animal;

— la modification de la formule leucocytaire pendant les différentes periodes de la maladie;

— la répartition des germes dans le sang;

— la répartition des germes dans les différents organes;

— le pouvoir bactéricide du suc des divers organes vis-à-vis de la même souche de staphylocoques;

— le pouvoir opsonique du suc de ces organes mêmes;

— le pouvoir opsonique du sérum du sang;

— le pouvoir agglutinant du sérum du sang vis-à-vis des staphylocoques;

et enfin:

— les recherches histologiques à l'aide des méthodes ordinaires de coloration et de celle de Pappenheim-Unna.

Les organes que j'ai soumis en même temps à cet ensemble de recherches ont été les suivantes: le corps thyroïde, le thymus, le pancréas, les capsules surrenales, le testicule; pour ce qui en est à l'hypophyse, qui fut isolée dans tous les cas, sa petitesse nous a empêché de pratiquer les recherches susmetionnées, de sorte que nous nous sommes bornés à l'étudier au point de vue histologique. Parallèlement, nous avons instituées, à titre de comparaison, des recherches sur le comportement d'autres organes appartenant au même animal, et précisément: le foie, les reins, la rate, les muscles, le cerveau.

Les animaux ont été sacrifiés respectivement à bout de 24, 38, 47, 71, 119 e 167 heures à partir de l'inoculation de la suspension staphylococcique.

Nous pouvons réunir les résultats les plus caractéristiques et les plus intéressants, comme suit: le *maximum* des réactions a été obtenu précocement, c'est-à-dire 24-28 heures après l'inoculation. Le nombre des germe rencontrés dans les glandes endocrines a été toujours exigu et, en général, il était proportionnément bien plus petit que celui que l'on a constaté lors des recherches comparatives pratiquées sur les autres organes. Au bout de la troisième journée il n'y a presque plus de germes dans les organes, sans arriver, néanmoins, à leur disparition totale.

Dès le début de l'infection, le pouvoir bactéricide du sang va s'exalter, pour s'atténuer ensuite. Le pouvoir bactéricide des organes est, en

général, très bas et il est décisément plus modique pour les glandes endocrines par rapport aux autres organes.

Pour ce qui se rapporte au pouvoir opsonique, nous pouvons affirmer qu'il a atteint son *maximum* pendant la première période de l'infection des différentes glandes. Déjà au bout de 24 heures à partir de l'inoculation, on observait un indice, quoique très faible, du pouvoir agglutinant envers le staphylocoque.

L'ensemble des recherches histologique confirme, en grande partie, le comportement des autres recherches immunitaires. Le *maximum* de la réaction cellulaire se manifeste assez précocement (après 24-36 heures), et il est accompagné d'une réaction interstitielle prononcée. Les lipoïdes, au lieu de se présenter en de gros amas, se brésillent, au cours de l'infection expérimentale, en de fins granules qui occupent tout le corps cellulaire.

Pour ce qui concerne le pouvoir anti-hémolytique que le sérum du sang réalise vis-à-vis de la saponine, on peut affirmer qu'il augmente à mesure que l'infection va se développer.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin.

BAJ L. – **Recherches cliniques et immunologiques sur la gonoréaction.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Depuis que les études modernes d'immunologie ont montré la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum du sang de malades affectés d'infection gonococcique, de nombreuses recherches ont été effectuées dans le but de trouver une épreuve biologique de reconnaissement diagnostique qui, dans ces formes, aurait pu nous diriger vers un diagnostic étiologique précoce. La réaction de la déviation du complément apliquée dans ce champ a été expérimentée par les divers Auteurs avec des résultats divers, lesquels sont tellement, discordants à ne pas permettre encore de donner un jugement certain sur la valeur précise de cette méthode.

Les différences dans les divers résultats semblent être en rapport, plutôt, avec la difficulté d'obtenir un antigène stable et sensible, qu'avec la variation de la technique en effet de la préparation de l'antigène et de la vitalité des germes employés dépend la plus ou moins grande spécificité de la réaction.

Le but de la présente note est de porter une contribution à l'argument, en exposant les observations faites par moi même sur des malades

affectés d'infection gonococcique. La technique que j'ai suivie a été celle que l'on emploie ordinairement pour la réaction de *Wassermann*: titrage soigné du complément et du système hémolytique et titrage très exact de l'antigène: celui-ci était directement préparé par moi, au moyen d'un culture de gonocoques de 24 h' provenant de 10 souches différentes isolées depuis peu.

Dans mes expériences j'ai trouvé comparé diverses méthodes de préparation de l'antigène, mais celle qui m'a donné les meilleurs résultats est la suivante: On prend les cultures de gonocoques (24 heures) et on les dilue dans 15 cmc. de solution physiologique stérile. On ajoute 1 cmc. de solution de NaOHN/1 et on place le tout dans un bain-marie à 37° pendant 2 heures. On reporte le Ph. à 7,2 et l'on ajoute un volume égal d'alcool absolu. On place le tout dans un bain-marie à 37° pendant 3 h. et pui dans une glacière pendant toute la nuit. Le jour suivant on recueille le précipité blanc en 10 cmc. de solution physiologique formolisée en raison de 0,1%: on prépare les dilutions et l'on effectue le titrage.

Mes recherches sont encore en cours, mais d'après les résultats obtenu sur de nombreux cas il résulterait que:

a) la gonoréaction résulte à peu près constamment négative chez les individus sains et dans d'autres formes morbides à l'exclusion de la syphilis (2% de positivitée);

b) la gonoréaction a peu de valeur dans les formes aigues blénnorragiques (8%) de positivité);

c) la gonoréaction donne un bon résultat dans les formes de blennorragie chronique et en particulier dans les arthritismes gonococciques (85% de positivité) et elle peut représenter une méthode diagnostique, de valeur appréciable.

Institut Bactériologique et Immunologique de l'Université Royale de Turin.

VIRANO G. – **L'équilibre de la défense immunitaire dans l'infection expérimentale chez des animaux soumis à des stimulations uniques et à des stimulations répétées.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Je viens d'avoir étudié le comportement des réactions humorales et hystiocitaires qui s'effectuent consécutivement à l'infection expérimentale de certains germes dans l'organisme soumis à des stimulations uniques et à des stimulations répétées.

Pour mes expériences j'ai utilisé de jeunes cobayes, en leur pratiquant

des injections répétées de suspensions de *b. pyocyaneum*. J'ai pris en considération les défenses immunitaires de la peau, du foie, de la rate et des reins.

Les recherches que j'ai accomplies afin de mettre en évidence l'activité de l'organisme, ont été les suivantes:

a) température du corps de l'animal;
b) modifications du nombre des leucocytes et formule leucocytaire;
c) répartition des germes dans le sang;
d) répartition des germes dans les organes;
e) pouvoir bactéricide du suc des organes;
f) pouvoir bactéricide du sang;
g) pouvoir agglutinant du sérum du sang;
h) recherches histologiques.

Les animaux ont été sacrifiés au bout de six, dix, quinze, vingt, vingt-six, et trente heures à partir de l'inoculation de la suspension de *b. pyocyaneum*.

On peut réunir les résultats obtenus, comme suit: tout d'abord (pendant les premières dix heures), on remarque un certain parallelisme entre la distribution des germes dans le sang et celle dans les tissus; ensuite, on ne constate plus l'existence de germes dans le sang, tandis qu'on en trouve encore dans les organes.

Le pouvoir bactéricide du sang se manifeste dès les premières heures et ensuite il va s'accentuer de plus en plus jusqu'à atteindre son *maximum* trente heures après l'injection de la suspension de *b. pyocyaneum*

Le pouvoir bactéricide des organes apparaît précocement et il persiste longuement, tout en s'affaiblissant dans les heures successives.

Le pouvoir agglutinant est nul pendant les différentes phases du processus défensif.

Le pouvoir phagocytaire apparaît bientôt et tend à augmenter, jusqu'à atteindre son *maximum* au bout de trente heures.

L'apparition du pouvoir bactéricide du sang et des tissus s'effectue en même temps que la disparition des germes.

En conclusion, de toutes ces recherches l'on peut peut déduire que l'ensemble de réactions défensives se comporte d'une façon analogue chez les animaux soumis à des stimulations uniques et chez ceux qui sont soumis à des stimulations répétées; mais chez ces derniers, les réactions sont plus intenses que chez les autres.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin.

TROSSARELLI L. – **Equilibre de la défense immunitaire au cours de l'infection expérimentale des animaux normalement alimentés et des animaux en état d'avitaminose.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

J'ai étudié comparativement l'ensemble des réactions de défense du sang et des autres tissus, lors de l'introduction d'un germe donné dans l'organisme des animaux normalement alimentés et de ceux qui se trouvent en état d'avitaminose (foin autoclavé).

J'ai donc employé des cobayes en bas âge, ayant à peu près le même poids, et je les ai soumis à une injection préventive d'une quantité déterminée de *b. pyocyaneum.*

Dans mes expériences j'ai tenu compte des données suivantes:

a) température du corps de l'animal;

b) formule leucocytaire;

c) distribution quantitative des germes dans le sang et dans les tissus;

d) pouvoir micro-bactéricide du sang et de l'extrait des organes vis-à-vis de la même souche de *b. pyocyaneum*;

e) index opsonique;

f) pouvoir agglutinant du sérum de sang vis-à-vis du *b. pyocyaneum*;

g) recherches histologiques.

Les organes que l'on a soumis en même temps, à cette série de recherches, ont été les suivants: la peau, le foie, la rate et le rein.

Les animaux ont été sacrifiés respectivement au bout de quatre, huit, douze, vingt, vingt-quatre, et vingt-huit heures à partir de l'inoculation de la suspension de *b. pyocyaneum.*

De l'ensemble de ces recherches j'ai constaté que les germes inoculés dans le sang des animaux normalement alimentés disparaissent rapidement, en se distribuant dans les différents tissus, tandis que les germes inoculés dans le sang des animaux se trouvant en état d'avitaminose, disparaissent avec un certain retard.

J'ai encore observé que chez les animaux normalement nourris, l'inoculation des germes dans la circulation est suivie par une réaction rapide de la part des pouvoirs défensifs, soit humoraux soit histogènes; cette reponse défensive persiste longtemps.

Dans les animaux avitaminisés la réaction défensive de l'organisme est plus prompte, mais elle a une très courte durée.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin.

DENES G. – **Recherches sur l'infection rhumatismale.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Nous venons d'avoir pratiqué l'hémoculture 18 fois chez des malades qui présentaient les symptômes caractéristiques de l'infection rhumatismale. Au début de l'affection il y avait: localisation tonxillaire, fièvre souvent très élevée, polyarthrite. L'hémoculture a été faite préférablement lorsque la température du patient atteignait ou dépassait les 39° C.

Du sang prélevé de la veine médiale du coude, l'on a pu isoler trois fois un dyplo-streptocoque non hémolytique, qui d'après notre avis, correspondrait, sur la base de ses caractères biologiques, au « *Streptococcus cardioartritide* » des AA. américains (Small, Wilson). De l'exsudat pharyngien des malades atteints de l'infection rhumatismale, nous avons isolé constamment des streptocoques non hémolytiques.

Les streptocoques isolés du sang ont exigé tout d'abord un milieu anaérobique ou sémi-anaérobique (bouillon glucosé en couche élevée); ensuite les germes ont poussé, à la présence d'oxigen, sur les milieux culturaux ordinaires.

Si les streptocoques spécifiques sont inoculés à des lapins jeunes, ils vont déterminer des lésions articulaires et valvulaire; nous ne sommes pas parvenus à provoquer ces lésions dans tous les cas.

Étant donné la présence dans le sang circulant de dyplo-streptocoques que nous croyons être spécifiques pour l'infection rhumatismale, nous nous sommes occupés de la prophylaxie immunitaire et de la thérapie.

Comme nous n'avions pas à notre disposition du sérum préparé moyennant ces souches, nous avons recours à l'auto-vaccin. Celui-ci fut préparé à l'aide de la souche isolée du sang et encore moyennant des souches anhémolytiques isolées de l'exsudat tonxillaire et pharyngien. Grâce à l'emploi de l'auto-vaccin, nous avons pu juguler en quelques jours l'attaque rhumatismal fébrile. Nous avons préparé aussi l'antigène soluble (suivant l'instruction de Small), c'est-à-dire une suspension de germes en solution physiologique philtrée par bougie et nous avons constaté que le patient supportait parfaitement le vaccin et que ce dernier exerçait une influence favorable sur l'évolution de l'affection rhumatismale.

Dans un de ces cas, le premier attaque de la maladie et l'extirpation consécutive des amigdales, pratiquée à la distance de six mois environ, ont été suivis par une rechute violente. L'attaque rhumatismal fut précédé par une localisation oro-pharyngienne évidente (toute la muqueuse de la rétro-bouche, le voile du palais et la luette étaient très rouges).

Même pendant cet attaque nous avons réussi à isoler nouvellement le dyplo-streptocoque.

Or, en partant de la constatation que toute attaque d'une infection rhumatismale est précédé par une localisation oro-pharyngienne, nous avons institué la vaccination locale à l'aide de l'auto-antivirus streptococcique. On appliquait généreusement l'antivirus sur la muqueuse orale, au moyen de petites boulettes stériles, imbibées de bouillon-filtrat.

L'extirpation partielle ou totale des amigdales n'empêche pas le retour d'attaques nouveaux de rhumatisme articulaire aigu. La sérothérapie (moyennant le sérum spécifique streptococcique), et le vaccinothérapie moyennant l'antigène soluble ou en suspension de streptocoques spécifiques, peuvent, sans doute, modifier favorablement l'évolution de l'attaque fébrile, mais elles ne sont certainement pas à même de procurer une immunité durable. Maintenant nous sommes en train de contrôler les cas traités avec de l'auto-antivirus, (et jusqu'à présent, c'est-à-dire plusieurs mois après le traitement, il n'y a aucun indice de récidives), dans le but de pouvoir appliquer ce traitement sur une grande échelle, afin d'éviter les rechutes et de déterminer une immunité à longue durée.

L'on pourrait associer l'amygdalotomie au traitement à l'aide de l'auto-antivirus streptococcique, préparé moyennant la souche isolée des amygdales extirpées à ces malades. Grâce à la seule ablation des amygdales en pleine infection, on peut juguler l'attaque rhumatismal, mais il ne s'ensuit qu'une immunité de très courte durée et parfois elle reste même absente. La vaccino-thérapie locale pourrait compléter éventuellement l'intervention chirurgicale.

DAVANZO I. – **Recherches sur le pouvoir bactéricide du sang.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Dans le but de compléter les nombreuses recherches que l'on a instituées dans l'Institut de M. le Prof. Azzi à propos du P. B. S. (1) j'ai estimé bon d'entreprendre une étude sur le P. B. des différents composés et dérivés du sang, en comparaison du P. B. du sang *in toto*, tel qu'il est employé pour ces expériences, c'est-à-dire sous la forme de sang citraté ou défibriné.

Voici mon procédé:

A) Je prélévais trois échantillons de sang, par le moyen d'une piqûre intraveineuse, après quoi:

(1) P. B. S. = pouvoir bactéricide du sang.

le premier échantillon était additionné d'une quantité moindre de citrate sodique, sous forme de solution au 30% afin de le rendre non coagulable;

le deuxième était défibriné;

le troisième était laissé se transformer en sérum.

Du premier et du deuxième échantillon je retirais, moyennant une centrifugation intense et prolongée, le plasma privé de leucocytes; après la séparation entre le plasma et les corpuscles je calculais, à l'aide de petits tubes jaugés, ayant un volume connu, le rapport volumétrique des deux parties. Je centrifugais aussi le sérum, afin de le priver des éléments cellulaires. Même dans ce cas je calculais le rapport volumétrique existant entre le sang employé et le sérum obtenu.

B) J'injectais au cobaye, par la voie péritonéale, du bouillon dilué, dans le but d'obtenir des leucocytes qu'ensuite l'on recueillait dans une solution citratée et qu'on lavait avec soin.

C) Je faisais une suspension de germes (staphylocoques) en de la solution physiologique de manière que 0 cmc. 10 contenaient quelques centaines environ de germes.

D) Je faisais des suspensions de germes dans le sang, dans ses dérivés et dans ses composants:

Groupe 1: sang citraté; sang défibriné;

Groupe 2: plasma citraté; plasma défibriné (1); sérum.

La différence de la composition morphologique des deux groupes étant représentée par les éléments cellulaires, j'ai établi un troisième groupe, en ajoutant aux deuxième, des leucocytes; afin d'avoir un contrôle j'ajoutais, dans les même conditions, une quantité égale de solution physiologique:

Groupe 3: plasma citraté plus leucocytes; plasma défibriné plus leucocytes; sérum plus leucocytes; plasma citraté plus solution physiologique; plasma défibriné plus solution physiologique; sérum plus solution physiologique.

J'employais 0 cmc. 50 de sang citraté et, quant aux dérivés et aux composants, j'utilisais une quantité réduite en proportion de leur contenu réel en sang *in toto*. Dans certains cas, j'ai employé, au contraire, des quantités fixes de sang et de ses dérivés et composants. Au quantitatif de 0 cmc. 50 correspondait la quantité de 0 cmc. 20 de suspension de germes

(1) Je veux parler (ici et ensuite) du plasma défibriné (en employant peut-être un mot qui n'est pas complètement approprié), tout simplement pour le distinguer du sérum obtenu en laissant le sang se transformer en sérum (III).

laquelle, au cours des autres expériences, était soumise à la réduction nécessaire, par rapport à la quantité de liquide sanguin employé.

E) Je portais tous les tubes à l'étuve, en les y laissant pendant trois heures, c'est-à-dire le temps *minimum* pour l'établissement de la bactéricidie.

F) En quelques cas j'ai établi le pouvoir opsonique et phagocytaire.

***

Et maintenant, voici les résultats que l'on a obtenu de ces études faites dans le but d'apporter une contribution à l'interprétation du phénomène de la bactéricidie du sang:

1) On rencontre toujours une quantité plus grande de P. B. dans le sang *in toto* que dans ses dérivés ou dans ses composants privés de tous les éléments cellulaires. Le P. B. *maximum* fut exercé, tantôt par le sang citraté, tantôt par le sang défibriné.

2) En général, l'addition de la solution physiologique réduit encore de plus le P. B. du plasma et du sérum.

3) En employant une solution de citrate sodique fort délayée, au lieu de la solution physiologique, on obtient le même résultat.

4) En ajoutant des leucocytes on obtient une considérable augmentation du P. B. des composants et des dérivés du sang et, dans ce cas, le P. B. peut s'exercer d'une façon encore plus remarquable que celle qui est expliquée par le P. B. du sang *in toto*.

***

Ces recherches vont contribuer à la démonstration du fait que dans le complexe phénomène de la bactéricidie du sang le facteur cellulaire aspécifique, c'est-à-dire la phagocytose, prédomine en des conditions normales, tandis que le facteur humoral serait secondaire et pourrait acquerir une importance fondamentale seulement en des conditions particulières ou pathologiques.

Institut Bactériologique et Immunologique de la R. Université de Turin.

FLORIO C. — **Action du sérum du sang des syphilitiques sur l'hémolyse de saponine.**

(Communication au IIIème Congrès de Micrcbiologie de Milan).

On sait que la saponine a un pouvoir hémolytique.

Le sérum de sang a une action inhibitoire sur cette hémolyse, dans une plus ou moins grande mesure, suivant qu'il contient dans une quantité plus ou moins grande un *quid* assez constant dans les sérums normaux d'adultes, variable dans divers sens avec l'âge et l'état de santé des sujets qui fournissent le sérum. Bien que non précisé, il semble que ce *quidum* se réfère à la cholestérine, ou du moins à la fraction lipoïdienne du sang. Sans doute, par elle-même, la cholestérine exerce cette inhibition sur l'hémolyse de la saponine; et, d'après mon avis, l'inhibition lui serait également imputable dans le serum, du moins en grande partie, non seulement en vue de différentes considérations mais aussi des recherches de nature chimique encore en cours et pas encore définitives.

Cela posé, j'ai cherché à connaître l'action du sérum du sang d'individus syphilitiques sur l'hémolyse de saponine par rapport aux sérums normaux. Je cherchais la dilution *maxima* de saponine qui donnait encore des hémolyses de 1 cc. de globules royges de mouton à 2%, dans une heure à 37°: ainsi titré le système hémolytique, je le mettais en contact avec des dilutions progressives du sérum à l'examen, et je lisais après 1 h. de bain-marie à 37°.

Tandis que dans une dizaine de sérums normaux j'ai trouvé qu'ils empêchaient l'hémolyse à la dilution assez constante de 1 : 50 — 1 : 60, dans 81 sérums syphilitiques, l'hémolyse était empêchée à des dilutions de 1 : 50 à 1 : 150, avec une moyenne de 1 : 90.

Si, au lieu de lire après 1 h., nous laissons en contact la saponine, les globules rouges, et le sérum à l'examen à diverses dilutions jusqu'à 18-20 h., nous voyons que l'hémolyse se poursuit même dans les éprouvettes dans lesquelles elle était empêchée auparavant, jusqu'à ce qu'elle s'arrête définitivement à une dilution donnée, qui, dans les sérums normaux, vaire de 1 : 5 à 1 : 20 avec une moyenne de 1 : 10; dans 30 sérums syphilitiques elle a résulté de 1 : 20 à 1 : 90 avec une moyenne de 1 : 40.

De cela on peut conclure que les sérums syphilitiques empêchent l'hémolyse de la saponine à des dilutions plus fortes que celle des sérums normaux, en raison d'un plus grand contenu d'une substance qui, ainsi que je l'ai dit plus haut, peut être considérée comme étant de la cholestérine, ou des lipoïdes en général.

L'étiologie de cette augmentation, et ses rapports avec la pathologie de l'infection syphilitique, ainsi qu'avec les réactions sérologiques, sont aussi des problèmes qui méritent d'être étudiés; ce que jene manquerai pas de faire à son temps.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie de l'Université Royale de Turin.

NEGRO C. – **A propos du microbisme latent.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

J'ai étudié le microbisme latent chez le cobaye et j'ai pu quelquefois constater la présence de microorganismes dans les organes internes d'animaux à l'apparence normale. Étant donné les enregistrements discordants et contraires de la littérature j'en ai cherché la cause et il m'a été possible de démontrer que ce fait doit être attribué aux conditions du milieu et surtout à l'alimentation.

En soignant d'une manière particulière les conditions hygiéniques et alimentaires, le microbisme latent va en disparaissant de l'organisme jusqu'à devenir une éventualité tout à fait exceptionnelle.

Et si l'on veut associer à mes recherches celles que M. Bianchetti a effectuées dans ce même laboratoire, on aura une gamme de probabilités de microbisme latent, facile chez les cobayes entretenus à un régime artificiellement déficient, plus difficile chez les cobayes tenus à un régime de vie *optimum* en ce qui concerne les conditions hygiéniques de vie et d'alimentation.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie de L'Université Royale de Turin.

MELA B. – **Recherches sur l'état de défense des tissus anesthésiés dans les rapports avec l'infection.**

(Communication au III.ème Congres de Microbiologie de Milan).

L'A, a voulu étudier comparativement la résistance présentée contre la propagation d'une infection, par les tissus sains et par ceux qui ont été anesthésiés.

Dans ce but l'A. anesthésiait chez un lapin une zone circonscrite de la muqueuse buccale d'un côté, et puis il inoculait des deux côtés une

dose égale d'une souche pathogène de staphylocoque piogène *aureus*. Après un certain intervalle de temps il sacrifiait l'animal pour procéder à l'examen macroscopique et microscopique des deux zones infectées.

Il a répété les expériences en anesthésiant la muqueuse d'un côté au moyen de l'anesthésie tronculaire et puis en provoquant, comme ci-dessus, l'infection des deux côtés. Cette seconde partie des recherches a été exécutée afin d'éviter le moindre effet traumatique possible avant l'infection aux dépens de la muqueuse.

Dans une troisième série de recherches il a étudié les modalités de l'entrée dans la circulation de germes pathogènes inoculés à travers la muqueuse buccale normale et à travers la muqueuse buccale soumise à l'anesthésie tronculaire.

De l'ensemble des recherches effectuées il résulte d'une manière évidente une plus grande facilité de propagation de l'infection à travers les tissus anesthésiés.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie de l'Université Royale de Turin.

NICOLETTI V. – **Sur l'action de renforcement du phénol dans la sérodiagnose de la syphilis.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'A., après avoir exposé l'état actuel de nos connaissances sur la fonction du phénol dans la sérodiagnose de la syphilis et rappelé sa précédente contribution à la question (Soc. It. Progresso Scienze, Riunione di Bolzano-Trento 1930), rapporte les résultat obtenus en étendant les précédentes recherches et en examinant systématiquement plus de 500 sérums, provenant d'individus syphilitiques et non syphilitiques, en présence d'antigènes lipoïdiens en présence et en l'absence de phénol. D'après ces recherches il résulte que le phenol employé dans certaines concentrations bien déterminées (c'est-à-dire en diluant l'antigène en solution physiologique phéniquée à 1/400-1/500), renforce notablement la sensibilité des antigènes lipoïdiens en présence des sérums syphilitiques (de telle sorte que nombre de sérums réagissent négativement en l'absence et positivement en présence du phénol), sans en diminuer la spécificité par rapport aux sérums non syphilitiques. Après avoir mis en relief l'importance pratique de ces résultats et la conséquente opportunité de compléter les recherches en question, l'A pose l'hypothèse déjà précédemment

formulée que l'action du phénol soit, en tout ou en partie, celle d'un cathalisateur dans la réaction entre sérum syphilitique et milieu lipoïdien.

Institut de Clinique Dermosyphilopathique de l'Université Royale de Pise.

MUZZARELLI G. – **La méthode de Muzzarelli pour la coloration des spores des microorganismes.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

La résistance tout à fait particulière présentée par les spores des microorganisme vis-à-vis des colorations, a préoccupé plusieurs Auteurs qui se sont intéressés à la résolution de ce problème, ayant recours aux mordants les plus coûteux et les plus imprevus, aussi bien qu'à la technique la plus compliquée, sans reussir, pourtant, à obtenir des résultats vraiment satisfaisants et définitifs.

Je renoncerai à faire ici une critique et une exposition détaillée de tout ce qui a paru, jusqu'à présent, sur cet argument; je dirai seulement que, d'après la littérature, on peut réunir une vingtaine de travaux, presque tous d'Auteurs étrangers.

Parmi les Italienes je vais rappeler ici MM. Carpano, Alessandrini et Sabbatini; ce dernier a obtenu de bons résultats, quoique sa méthode, tout en ayant plus d'efficacité que celles préconisées par les autres AA., ne soit pas très originale car elle ressemble à la méthode qui fut proposée par M. Luisi, pour la coloration du bacille tuberculeux.

Je dirai encore que la méthode que l'on emploie le plus et que l'on estime la meilleure pour la pratique de laboratoire, c'est la méthode de Moeller, qui mordence les spores moyennant une solution d'acide chromique au 5%.

En 1923 je me suis occupé de cet argument, et, après avoir expérimenté toutes les méthodes connues par la littérature, j'ai pu proposer, à la fin de mes recherches, une nouvelle méthode.

Cette méthode se base sur l'emploi d'une solution de bleu de méthylène boracique, semblable à celle qui fut déjà préconisée par M. Manson pour la coloration des parasites du paludisme et qui est composée comme suit: on délaye à chaud 5 gr. de borate de sodium en 100 cmc. d'eau distillés; on refroidit et l'on place dans cette solution 2 gr. de bleu de méthylène en poudre; on délaye le tout, en additionnant 300 cmc. d'eau distillée. La solution ainsi préparée est prête pour l'emploi.

La solution décolorante est fournie par l'acide nitrique, au 10%.

La solution de contraste est fournie par l'éosine aqueuse à l'1%; on peut aussi employer comme contraste l'Orange G. en solution saturée.

Pour appliquer la méthode en question, l'on étale sur un frottis, préalablement fixé à la flamme, le bleu de méthylène boracique de la première solution. L'on chauffe à petite flamme, jusqu'à formation de vapeurs, pendant 20-30 secondes environ. On lave et on décolore pour un instant, moyennant la solution d'acide nitrique. On lave nouvellement; on se sert comme contraste de l'éosine qui se revèle en peu de secondes. On lave encore, on essuye et on observe.

La méthode que je viens d'exposer présente l'avantage d'une grande rapidité d'exécution (de 40 secondes à une minute) et d'une grande facilité aussi; on ne rencontre aucune difficulté dans la préparation des solutions; elle ne sont pas chères et peuvent durer longuement. Et les préparés aussi sont durables.

En utilisant cette méthode l'on peut colorer toute sorte de spores. Dans les préparés le contraste qui existe entre les bacilles et les spores est bien net. Les expériences que quelques uns de mes Collègues s'étant intéressés à l'argument, et moi même nous avons pratiquées, ont donné les résultats les plus flatteurs.

Il est bon de remarquer que l'on obtient des résultats excellents dans la coloration des bacilles tuberculeux et acido-résistants; les difficultés rencontrées par quelque rechercheur, dépendent bien souvent de l'épaisseur excessive des frottis, ou du temps de la décoloration; il faut donc rappeler ici que pour appliquer la méthode d'une façon satisfaisante il est absolument nécessaire de connaître parfaitement les temps du procédé.

La solution de bleu de méthylène boracique, sur laquelle se base la méthode dont il est discours, peut être efficacement utilisée en plusieurs autres recherches de laboratoire.

En suivant les investigations faites par M. Reis, j'ai tâché de colorer les corps inclus du trachome; les résultats ont été excellents. La solution de bleu de méthylène boracique que j'ai employée était identique à celle qui avait été utilisée pour la coloration des spores et dont j'ai parlé plus haut. Il n'y avait qu'une différence: la dilution, au lieu d'être dans les proportions de 1 à 4, était la proportion de 1 à 40. Après avoir étalé la solution sur le frottis de sécrétion trachomateuse pendant 15-20 secondes, on pouvait observer que les globules inclus étaient intensement colorés en bleu, tandis que le matériel ambiant avait au contraire une coloration plus pâle. Dans la dilution de 1 à 20 on peut utiliser la solution de bleu de méthylène boracique, pour la coloration des corps inclus de la rage, suivant la technique que Stulzer a déjà employée, c'est-à-dire en remplaçant la solution de bleu alcalin de Löffler contenant de l'hydrathe

potassique à l'un pour 10.000 avec de la solution boracique. On obtient toujours des résultats vraiment excellents.

Mon expérience personnelle de sept années m'entraîne á rappeler nouvellement ma méthode pour la coloration des spores. Même à présent on cite la méthode de Moeller comme étant la meilleure, mais j'estime que la mienne possède quelques avantages en plus, ce qui pourra être constaté par tout ceux qui voudront bien l'expérimenter.

MAZZETTI G. – **Tentetives de restitution de la virulence " in vivo " et " in vitro ", en présence et en l'absence de vitamines, d'une souche charbonneuse hématique asporigène.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'A. rappelle comment il a pu obtenir une souche asporigène charbonneuse en cultivant une souche de ce germe dans un bouillon de Löffler additionné de 1 : 2000 de bichromate de potasse, suivant la méthode de Chamberland et Roux. Cette souche asporigène, bien que peu virulente aussitôt après l'isolement, a été rendue par l'A virulente à nouveau jusqu'à tuer par l'inoculation en doses minimes, un lapin en 3-4 jours. Pendant ces tentatives de virulentation la souche resta constamment asporigène. Transplantée successivement deux fois par mois sur les terrains ordinaires (bouillon et agar) elle perd progressivement sa virulence, se montrant soumise à la loi particulière de beaucoup de germes pathogènes, désormais universellement connue, lorsque ceux-ci ne sont pas passés, périodiquement, sur des organismes réceptifs. On démontre ainsi également l'importance que a la présence de la forme sporale dans la biologie du bacille charbonneaux pour le maintien de la virulence.

Les travaux de Setti et de l'école d'Ascoli ont affirmé l'importance de l'absence du facteur vitaminique dans la virulentation de différents germes pathogènes et spécialement du bac. charbonneux. Bien que cette assertion ait été réfutée et niée par d'autres rechercheurs (Petragnani, Tallo, etc.), étant donné la grande importance de l'argument et de la méthode qui suppléerait, et serait même préférable à la méthode classique de la virulentation au moyen du passage successif dans les organismes réceptifs, l'A. a voulu tenter cette voie pour redonner à sa souche asporigène de charbon, la virulence désormais presque totalement perdue.

L'A. a donc essayé comparativement la manière de se comporter de la virulence de cette souche, en la passant sur des terrains ordinaires (bouillon, agar) qui d'après Setti représentent un milieu vitaminé, et

sur un terrain dépourvu de vitamines au riz pié, suivant les indications de Setti lui-même.

L'A. déclare que la souche, au point de départ des expériences, s'est montré complètement inoffensive pour le cobaye, tandis que pour la souris elle est encore virulente, bien que légèrement. En effet les souris injectées par voie sans-cutanée avec des quantités variant de 0,5 à 2 cc. de bouillon de culture de 24 h., sont mortes de septicémie charbonneuse: deux d'entre elles après 10 jours et une après un mois environ. Il est intéressant le fait, déjà noté par l'A., que tandisque dans les préparations et dans les cultures le bac. charbonneaux est abondant dans la rate, il est au contraire très rare dans le sang circulant. On doit encore remarquer la volumineuse capsule qui dans les préparations sur frottis obtenus avec le sang circulant et avec la rate, se révèle très bien en faisant usage de la propriété métachromatique du bleu alcalin de Löffler.

Une fois le degré de virulence établi, on a effectué journellement, des passages de la souche sur agar et bouillon ordinaire, sur agar et bouillon-riz pilé. Au 26ème passage les cobayes et les souris sont inoculés de nouveau avec des quantités de culture égales à celle plus forte, employée dans les premières inoculation. On n'a pu constater aucune augmentation de virulence soit pour les cobayes, soit pour les souris inoculés avec des cultures préparées sur des terrains ordinaires et sur terrain avitaminé. On a inoculé également suivant le même procédé, quelques pigeons summis à la diète avitaminique, à intervalles voulus de temps et lorsqu'on l'a réputé plus opportun pour la symptomatologie béri-bérique bien manifeste. En même temps on a inoculé autant de pigeons de contrôle (à diète normale).

Bien que de fortes doses de culture (10-15 cc. de bouillon de culture de 24 h.) aient été injectées par la voie intramusculaire et intraveineuse, ces essais ont également donné un résultat negatif.

L'A. a tâché aussi de faciliter le processus de revirulentation, en pratiquant l'hémoculture de l'axillaire des colombes inoculées 6-7 heures auparavant, avec l'intention de reppiquer le germe ainsi cultivé chez d'autres colombes, mais l'hémoculture n'a été positive que pour un seul pigeon contrôle inoculé avec 10 cc. de culture de 24 h. dans du bouillon ordinaire.

A present l'A. cherche à rendre nouvellement virulente la souche par des passages continus sur des souris et, bien que ces expériences soient en cours, il a pu déjà obtenir, en harmonie avec ce qui est déjà connu pour cette méthode classique, une augmentation de la virulence en tant que la souris, qui était injectée par voie sous-cutanée avec 2 cc. de bouillon de culture de 24 h., mourait auparavant dans une période variant de 10 jours à un mois. A présent, après 12 passages, lorsqu'elle est inoculée

par la voie sous-cutanée avec 0,5 cc. d'émulsion de rate de souris, déjà tuée par septicémie charbonneuse, l'animal succombe au bout de quatre jours. De bonnes espérances sont également données, pour une augmentation continue de la virulence, par le fait que la culture en bouillon déjà homogène, tend à reprendre l'aspect floconneux typique de la culture du bac. du charbon. L'A. conclut en confirmant l'extrême difficulté — d'ailleurs bien connue — de rendre la virulence du bac. du charbon atténué (Pasteur, Ascoli) et en affirmant qu'en aucun cas il a pu entrevoir des propriétés particulières du milieu avitaminé pour un pareil procédé de restitution de virulence,

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.